

Penertbit Jurusan Biologi FMIPA UNM
Kampus UNM Parangtambung
Jalan Malengkeri Raya
Makassar
Email: biopress@unm.ac.id



ISBN : 978-602-52965-7-4

ANALISIS KUALITAS DAGING HEWAN TERNAK UNGGAS DAN RUMINANSIA



Penulis :

**Fitratul Insaniah Rusli, Almi Abdila, Wulan Purnamasari, Nurjannah J., Erwinda,
Bau Nurul Annisa, Agung Gunawan, Aryati Arief, Muh. Habil Ahmad,
Nofridha Islami, Fiqril Arief, Nur Amalia Alif, dan Nur Awalia.**

Editor :

**Oslan Jumadi
A. Mu'nisa**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI, JURUSAN BIOLOGI FMIPA
UNIVERSITAS NEGERI MAKASSAR**

ANALISIS KUALITAS DAGING HEWAN TERNAK UNGGAS DAN RUMINANSIA

Penulis:

Fitratul Insaniah Rusli, Almi Abdila, Wulan Purnamasari, Nurjannah J.,
Erwinda, Bau Nurul Annisa, Agung Gunawan, Aryati Arief,
Muh. Habil Ahmad, Nofridha Islami, Fiqril Arief,
Nur Amalia Alif, dan Nur Awalia.

Editor:

Oslan Jumadi
A. Mu'nisa

Penerbit Jurusan Biologi FMIPA UNM
Kampus UNM Parangtambung
Jalan Malengkeri Raya
MAKASSAR
Email: biopress@unm.ac.id

Analisis Kualitas Daging Hewan Ternak Unggas Dan Ruminansia

Penulis

Fitratul Insaniah Rusli, Almi Abdila,
Wulan Purnamasari, Nurjannah J., Erwinda,
Bau Nurul Annisa, Agung Gunawan, Aryati Arief,
Muh. Habil Ahmad, Nofridha Islami, Fiqril Arief,
Nur Amalia Alif, dan Nur Awalia.

Editor

Oslan Jumadi
Andi Mu'nisa

ISBN

978-602-52965-7-4

Desain Cover

Agung Gunawan

Hak Cipta 2019, pada Penulis

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh isi buku ini dengan cara apapun tanpa izin sah dari penerbit.

ISBN 978-602-52965-7-4



Penerbit Jurusan Biologi FMIPA UNM

Kampus UNM Parangtambung

Jalan Malengkeri Raya

Makassar

Email: biopress@unm.ac.id



Kata Pengantar

Segala puji bagi Allah Subhânahu wa ta'ala Tuhan Yang Maha Esa, karena telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan penyusunan buku ini. Buku ini diberi judul **“Analisis Kualitas Daging Hewan Ternak Unggas dan Ruminansia”**. Buku ini berisi beberapa metode pengujian yang digunakan untuk mengetahui kelayakan suatu produk hewan terutama yang berasal dari hewan unggas dan ruminansia. Pengujian kualitas daging hewan ternak dalam buku ini dilakukan dari berbagai aspek yaitu dari keberadaan virus dan mikroba pencemar seperti bakteri dan jamur, hewan parasit seperti cacing, dan pengecekan kondisi fisik hewan ternak baik pengecekan kesehatan hewan yang masih hidup ataupun yang sudah mati karena sakit.

Buku ini adalah hasil kegiatan Kerja Praktek (KP) Program Studi Biologi, Jurusan Biologi FMIPA UNM tahun 2019. Buku ini merupakan hasil kerja sama antara Jurusan Biologi Universitas Negeri Makassar dengan Balai Besar Veteriner Maros (BBVet Maros). Ucapan terima kasih kepada para penulis yang berkontribusi dalam penyusunan setiap bab dalam buku ini. Kami juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang membantu dalam penyelesaian buku ini.

Besar harapan kami agar buku ini dapat menjadi salah satu rujukan oleh para pembaca mengenai metode analisis kualitas daging hewan ternak dan ruminansia. Kami juga berharap dapat terus meningkatkan kualitas buku yang kami susun agar dapat lebih bermanfaat bagi para pembaca yang membutuhkan.

Makassar, 28 Desember 2019

Editor

Daftar Isi

Kata Pengantar	i
Daftar Isi	ii
Profil Jurusan Biologi FMIPA UNM	iii
Profil Balai Besar Veteriner Maros	v
1. Pengujian <i>Salmonella</i> sp. pada Daging Ayam <i>Fitratul Insaniah Rusli</i>	1
2. Pengujian <i>Staphylococcus aureus</i> pada Daging Ayam <i>Almi Abdila</i>	11
3. Pengujian <i>Escherichia coli</i> / Koliform pada Daging Ayam <i>Wulan Purnamasari</i>	21
4. Pengujian Antraks (<i>Bacillus anthracis</i>) pada Tanah Peternakan <i>Nurjannah J.</i>	29
5. Pengujian Brucellosis pada Serum Darah Sapi dengan Metode <i>Rose Bengal Test (RBT)</i> <i>Nofridha Islami dan Nurjannah J.</i>	45
6. Identifikasi Telur Cacing pada Feses Ternak dengan Metode Uji Apung dan Sedimentasi <i>Erwinda</i>	55
7. Diagnosa Trypanosomiasis (Surra) dengan Metode Mikroskopik <i>Fiqril Arif dan Almi Abdila</i>	65
8. Pengujian <i>Packed Cell Volume (PCV)</i> dan Total Plasma Protein (TPP) pada Darah Sapi <i>Bau Nurul Annisa S.</i>	77
9. Nekropsi pada Unggas <i>Nur Amaliah Alif dan Agung Gunawan</i>	87
10. Diagnosa Virus Avian Influenza pada Ayam Buras melalui pengujian HA (<i>Haemaagglutination</i>) <i>Nur Awalia dan Aryati Arief</i>	103
11. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E) <i>Muh. Habil Ahmad</i>	113

Profil Jurusan Biologi FMIPA UNM

A. Visi, Misi, dan Tujuan Jurusan Biologi FMIPA UNM

1. Visi

Jurusan Biologi menjadi Jurusan unggulan pada tahun 2025 dalam bidang riset dan pengajaran ilmu-ilmu hayati, serta berdaya guna secara maksimal melayani masyarakat

2. Misi

Menyelenggarakan kegiatan akademik, dengan mengoptimalkan pendayagunaan potensi internal dan eksternal secara sehat dan dinamis untuk mengembangkan ilmu pengetahuan dan teknologi dan menghasilkan lulusan yang kompetitif.

3. Tujuan

Menghasilkan sarjana pendidikan biologi dan sains profesional, memiliki jiwa kewirausahaan, sehingga memungkinkan untuk menjadi agen pembaharu dalam pengembangan kewirausahaan berbasis Biologi, menguasai teknologi yang terkait bidang ilmunya, serta menguasai Bahasa Inggris sebagai Bahasa pengantar didalam berkomunikasi ilmiah/internasional.

B. Pimpinan Jurusan

Ketua Jurusan Biologi	: Dr. Drs. Abd. Muis, M.Si
Sekretaris Jurusan Biologi	: Rachmawaty, S.Si., M.P, Ph.D
Ketua Prodi Pendidikan Biologi	: Dr. Muhiddin P, S.Pd., M.Pd
Ketua Prodi Biologi	: Dr. Ir. Muhammad Junda, M.Si
Kepala Laboratorium Jurusan Biologi	: Dr. A. Mu'nisa, S.Si., M.Si
Kepala Laboratorium Kebun Percobaan Biologi	: Dr. Adnan, M.S

C. Fasilitas Jurusan Biologi FMIPA UNM

Jurusan Biologi sebagai salah satu jurusan yang ada di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Makassar, mempunyai beberapa fasilitas pendukung yang dapat menunjang proses perkuliahan. Beberapa fasilitas yang dimiliki oleh jurusan biologi yaitu:

1. Laboratorium

Laboratorium jurusan Biologi FMIPA UNM memiliki sub unit laboratorium yaitu:

- Laboratorium Botani
- Laboratorium Zoologi
- Laboratorium Mikrobiologi
- Laboratorium Bioteknologi dan Biologi Molekuler
- Laboratorium Kultur Jaringan
- Laboratorium Mikroteknik

2. Laboratorium Kebun Percobaan Biologi (LKPB)

LKPB atau Lab Kebun Percobaan Biologi sebagai wadah bagi civitas akademika Biologi FMIPA UNM untuk melakukan penelitian, praktikum, dan sebagai media edukasi di bidang Biologi

3. Ruang Microteaching

Ruangan ini digunakan untuk mata kuliah Microteaching yaitu mata kuliah latihan mengajar bagi mahasiswa prodi Pendidikan Biologi

4. BioNature

BioNature merupakan salah satu fasilitas di jurusan Biologi FMIPA UNM yang bergerak dalam bidang penerbitan jurnal ilmiah

5. Perpustakaan

6. Ruang Seminar

7. Gedung Kuliah

D. Program Studi Jurusan Biologi FMIPA UNM

1. Program Studi Pendidikan Biologi

Program studi pendidikan biologi merupakan program studi yang akan mencetak calon- calon tenaga pengajar Biologi. Program studi Pendidikan Biologi dibagi menjadi dua yaitu Pendidikan Biologi (reguler) dan pendidikan Biologi ICP (Bilingual).

2. Program Studi Biologi

Program studi Biologi merupakan salah satu prodi yang ada di jurusan Biologi FMIPA UNM yang akan mencetak sarjana sains (S.Si), mencetak ilmuwan dan peneliti muda yang siap terjun ke dalam masyarakat dan dunia kerja.

Profil Balai Besar Veteriner Maros

BBVet Maros memiliki wilayah kerja meliputi sepuluh propinsi antara lain, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Tengah, Sulawesi Utara, Sulawesi Barat, Gorontalo, Maluku Utara, Papua, Dan Irian Jaya Barat. Balai besar veteriner merupakan unit pelaksana teknis di bidang peternakan dan kesehatan hewan, yang berada di bawah dan tanggung jawab kepada Direktur Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan.

A. Kedudukan, Tugas dan Fungsi BBVET MAROS

Berdasarkan surat keputusan Menteri Pertanian Nomor :54/Permentan/OT.140/5/2013, tanggal 24 Mei 2013 tentang Organisasi dan Tata Kerja Balai Besar Veteriner adalah:

1. Kedudukan

Balai Besar Veteriner yang selanjutnya disebut BBVet adalah unit pelaksana teknis di bidang peternakan dan kesehatan hewan, berada dibawah dan tanggung jawab Direktur Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, dan secara teknis dibina oleh Direktur Kesehatan Hewan dan Direktur Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Pasca Panen.

2. Tugas

Balai Besar Veteriner (BBVET) Maros mempunyai tugas melaksanakan pengamatan dan pengidentifikasian diagnosa pengujian veteriner dan produk hewan, serta pengembangan teknik dan metode penyidikan, diagnosa dan pengujian veteriner.

3. Fungsi

- a. Penyusunan program, rencana kerja, dan anggaran, pelaksanaan kerja sama, serta menyiapkan evaluasi dan pelaporan.
- b. Pelaksanaan penyidikan penyakit hewan.
- c. Pelaksanaan penyidikan melalui pemeriksaan dan pengujian produk hewan.
- d. Pelaksanaan surveilans penyakit hewan, dan produk.
- e. Pemeriksaan kesehatan hewan, semen, embrio, dan pelaksanaan diagnosa penyakit hewan.

- f. Pembuatan peta penyakit hewan regional.
- g. Pelaksanaan pelayanan laboratorium rujukan dan acuan diagnosa penyakit hewan menular.
- h. Pelaksanaan pengujian dan pemberian laporan dan/atau sertifikasi hasil uji.
- i. Pelaksanaan pengujian forensik veteriner.
- j. Pelaksanaan peningkatan kesadaran masyarakat (*public awareness*).
- k. Pelaksanaan kajian terbatas teknis veteriner.
- l. Pelaksanaan pengujian toksikologi veteriner dan keamanan pangan.
- m. Pemberian bimbingan teknis laboratorium veteriner, pusat kesehatan hewan, dan kesejahteraan hewan.
- n. Pemberian rekomendasi hasil pemeriksaan dan pengujian veteriner, serta bimbingan teknis penanggulangan penyakit hewan.
- o. Pelaksanaan analisis resiko penyakit hewan dan keamanan produk hewan di regional.
- p. Pemantauan dan evaluasi pelaksanaan pelayanan kesehatan hewan dan kesehatan masyarakat veteriner.
- q. Pengkajian batas maksimum residu obat hewan dan cemaran mikroba.
- r. Pemberian pelayanan teknis penyidikan, pengujian veteriner & produk hewan, serta pengembangan teknik & metoda penyidikan, diagnosa & pengujian veteriner.
- s. Pelaksanaan pengembangan dan diseminasi teknik dan metoda penyidikan, diagnosa dan pengujian veteriner.
- t. Pengembangan sistem dan diseminasi informasi veteriner.
- u. Pengumpulan, pengolahan, dan analisis data pengamatan dan pengidentifikasian diagnosa, pengujian veteriner dan produk hewan.
- v. Pengelolaan urusan tata usaha dan rumah tangga BB-Vet.

B. Visi, Misi, dan Kegiatan BBVET MAROS

1. Visi

Terwujudnya pelayanan laboratorium veteriner prima dalam menunjang pengembangan peternakan yang berbasis agribisnis sebagai upaya peningkatan ketahanan pangan.

2. Misi

- a. Mewujudkan pelayanan prima laboratorium veteriner yang professional.
- b. Mewujudkan sumber daya manusia yang tangguh, berdayaguna dan berhasil guna mengembangkan metoda mengujian, analisa hasil uji dan sistem informasi veteriner.

3. Kegiatan BBVet

- a. Investigasi/ pengamatan dini penyakit hewan.
- b. Diagnose lapangan dan laboratorium.
- c. Suveilans penyakit hewan pada komoditi ternak.
- d. Surveilans dan monitoring penyakit hewan menular strategis.
- e. Surveilans dan monitoring cemaran mikroba dan residu.
- f. Surveilans dan monitoring hog cholera.
- g. Surveilans dan monitoring campylobacter.
- h. Surveilans dan monitoring salmonellosis.
- i. Kordinasi dan pembinaan Puskewan/ Lab tipe B/C.
- j. Rapat kordinasi penyakit hewan menular se-wilyah kerja.
- k. Apresiasi teknis laboratorium.
- l. Apresiasi sistim informasi laboratorium.
- m. Rapat kordinasi antar instansi terkait, dll.

C. Sarana dan Prasarana

Balai Besar Veteriner Maros dilengkapi dengan sarana dan prasarana seperti:

1. Laboratorium: Parasitologi, Patologi, Bakteriologi, Serologi, Virulogi, Epidemiologi dan Informasi, Kesmavet/ Toksikologi, dan Bioteknologi;
2. Instalasi Hewan Percobaan;
3. Perpustakaan;
4. Sarana olahraga;
5. Sarana ibadah/musholla;
6. Wisma tamu; dll.

D. Pengelolaan Spesimen Uji

1. Pedoman umum pengiriman spesimen

Pengiriman spesimen hendaknya sesuai pedoman umum pengiriman spesimen yang meliputi antara lain :

a. Recording

- 1) Memberikan label pada semua spesimen yang jelas tentang jenis, tanggal pengambilan, spesies hewan, macam pengawet.
- 2) Menuliskan informasi yang jelas tentang spesimen dalam surat pengantarnya.
- 3) Bila spesimen hasil bedah bangkai maka harus disertai catatan bedah bangkainya.
- 4) Bila spesimen yang dikirim lebih dari satu macam masing-masing diberi label.
- 5) Untuk pemeriksaan histopatologi spesimen bisa dijadikan satu dalam satu botol dengan pengawet formalin 10%.

b. Pengawetan spesimen

Agar organismenya bisa diisolasi dan diidentifikasi maka spesimen yang diterima laboratorium harus dalam keadaan baik, maka perlu dilakukan:

- 1) Pendinginan (es, dry ice).
- 2) Pengawetan (Gliserin, *Transport media*, Formalin, Alkohol, dll).

c. Pengepakan

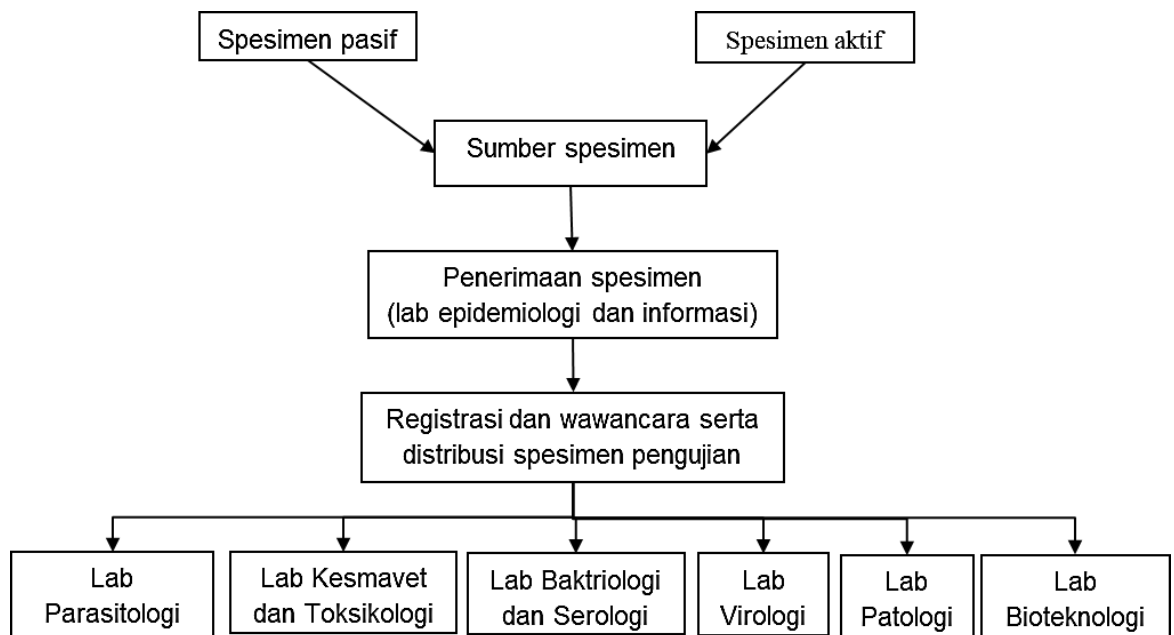
Pengepakan harus kuat, jangan sampai botol pecah, surat pengantar dikirim terpisah. Pengepakan terhadap spesimen yang disimpan pada barang pecah belah (tabung reaksi, slide mikroskopik, botol kaca dll) hendaknya dikirim dengan bahan penopang kertas/ koran bekas, dan diberi keterangan pada bagian luar. Hal yang harus diperhatikan saat menerima sampel

- 1) Kemasan
- 2) Tempat spesimen
- 3) Transport media Swab misal untuk uji AI/ND: Nutrient Broth/ media lainnya; 0,075 mg/ml kanamycin; 1500IU penicillin; 1,5mg/ml streptomycin.
- 4) Labelling/kode: jenis spesimen; kode/urutan sesuai dengan surat pengantar spesimen; tanggal pengambilan; pengawet.

2. Alur penerimaan spesimen Balai Besar Veteriner Maros

- a. Pelanggan memasuki epidemiologi dengan membawa spesimen untuk melakukan pengujian spesimen atau mengkaji ulang spesimen yang telah diuji ke epidemiologi. Sebelumnya spesimen yang akan diuji diberi kode.
- b. Menerima spesimen yang akan diujikan

- c. Melakukan registrasi dan distribusi spesimen pengujian. Pelanggan akan diberikan kode *billing*.
- d. Melakukan pembayaran, verifikasi pembayaran lalu diterima oleh pihak epidemiologi.
- e. Membawa spesimen ke lab yang ingin diujikan seperti lab bakteriologi, lab bioteknologi, lab kesmavet, lab parasitologi, lab patologi dan toksikologi, lab serologi, dan lab virologi.
- f. Melakukan pengujian spesimen dan memberikan jawaban kepada pihak epidemiologi apakah spesimen tersebut positif atau tidak.
- g. Menerima jawaban dan memberikan jawaban tersebut kepada pelanggan.



Gambar 1. Skema Alur spesimen Balai Besar Veteriner Maros

3. Jenis Penyakit dan Media Transport Pengiriman Spesimen Balai Besar Veteriner Maros

No	PENYAKIT	JENIS PENYAKIT	KEMASAN	MEDIA TRANSPORT	LAB PENGUJIAN	KIRIMAN
1	Rabies	Kepala HPR (Hewan Penyebar Rabies)	Dalam steroform & Es	Segar	Patologi	Dalam steroform & Es
		Hipocampus otak hewan tersangka	Dalam tabung steril	Formalin 50 %	Virologi	Dalam steroform & Es
		Hipocampus otak hewan tersangka	Dalam tabung steril	Formalin 10 %	Patologi	Dalam steroform & Es
		Preparat Sentuh Hipocampus	Dalam slide mikroskop	-	Virologi	Dalam steroform & Es
2	Avian Influenza (AI) dan Newcastle Disiase (ND)	Serum (Serum terpisah dari gumpalan darah)	Spoit steril	-	Virologi	Dalam steroform & Es
		Swab Kloaka / Swab Trachea		1. Nutrien Broth (RPMI:99,0gr/10 lt)	Virologi	Dalam steroform & Es
				2. 0.075mg Kanamycine		
				3. 100 ug/ml Streptomycine		
				4. 100.000 UI		

				Peniciline		
		Organ	Dalam tabung steril	Gliserin 10 %	Virologi	
		Organ	Dalam tabung steril	Formalin 10 %	Patologi	
3.	IBD /Gumboro	Serum (Serum Terpisah dari gumpalan darah)	Spoit steril atau eppendorf steril	-	Virologi	Dalam steroform & es
		Swab kloaka/ Swab Trachea		1. Nutrien Broth (RPMI:99,0gr/10 lt)	Virologi	Dalam steroform & es
				2. 0.075mg Kanamycine		
				3. 100 ug/ml Streptomycine		
				4. 100.000 UI Peniciline		
		Organ	Dalam tabung steril	Gliserin 10 %	Virologi	Dalam steroform & es
		Organ	Dalam tabung steril	Formalin 10 %	Patologi	

4.	Brucellosis	Serum (serum terpisah dari gumpalan darah)	Spoit steril atau eppendorf steril	-	Serologi	Dalam steroform & es
		Organ (Limfoglandula)	Dalam tabung steril	Gliserin 10 %	Bakteriologi	
5	Hog Cholera	Serum (serum terpisah dari gumpalan darah)	Spoit steril atau eppendorf steril	-	Virologi	Dalam steroform & es
		Organ	Dalam tabung steril	Gliserin 10 %	Virologi	Dalam steroform & es
		Organ	Dalam tabung steril	Formalin 10 %	Patologi	
6	Anthraks	Ulas darah	Dalam slide mikroskop	-	Bakteriologi	
		Darah	Dalam tabung kapur	EDTA/HEPARIN	Bakteriologi	Dalam steroform & es
		Organ	Dalam tabung/ plastik steril	-	Bakteriologi	
		Tanah	Dalam tabung steril	-	Bakteriologi	
7	Mycoplasma	Swab	Dalam tabung steril dengan cotton bud	Nutrient tabung Broth(RPMI:99,0gr/lit)	Bakteriologi	Dalam steroform & es
		Organ	Dalam tabung reaksi	Gliserin 10 %	Bakteriologi	

8	Protozoa	Ulas darah	Dalam slide mikroskop	-	Parasitologi	
9	Helminthology	Feses dalam rectum	Dalam plastik steril	Segar	Parasitologi	Dalam steroform & es
		Feses dalam rectum	Dalam plastik steril	Formalin 10% (bila jarak jauh)	Parasitologi	
10	Residu Antibiotik	Produk Bahan Asal Hewan	Dalam plastik steril	Segar	Kesmavet	
11	Aflatoxin	Pakan	Dalam plastik steril	Segar	Kesmavet	Dalam steroform
12	Hematologi	Darah	Dalam tabung steril	EDTA/HEPARIN	Kesmavet	Dalam steroform & es
13	Salmonellosis	Organ	Dalam tabung steril	Segar	Bakteriologi	Dalam steroform & es
		Produk Bahan Asal Hewan	Dalam plastik steril	Segar	Kesmavet	Dalam steroform & es
14	E. coli	Organ	Dalam plastik steril	Segar	Bakteriologi	Dalam steroform & es
	E.coli dan Coliform	Produk Bahan Asal Hewan	Dalam plastik steril	Segar	Kesmavet	Dalam steroform & es
15	Stapylococcus	Organ	Dalam tabung steril	Segar	Bakteriologi	Dalam steroform & es

		Produk Hewan	Bahan	Asal	Dalam plastik steril	Segar	Kesmavet	Dalam steroform & es
16	Total Plate Count	Produk Hewan	Bahan	Asal	Dalam plastik steril	Segar	Kesmavet	Dalam steroform & es
17	Formalin	Produk Hewan	Bahan	Asal	Dalam plastik steril	Segar	Kesmavet	Dalam steroform & es
18	Keracunan	Isi Rumen, muntahan			Dalam plastik steril dan ditutup rapat	Segar	Kesmavet	Dalam steroform & es
19	Diferensiasi Sel	Ulas darah tipis			Dalam plastik steril	Segar	Kesmavet	
20	IBR (Infectious Bovine Rhinotrachitis)	Erum (uji ELISA)			Dalam ependorf/ Tabung Steril	Segar	Serologi	Dalam steroform & es
21	BVD (Bovine Viris Diarrhea)	Serum (Uji ELISA) serum (PCR)			Dalam ependorf/ Tabung Steril	Segar	Serologi	Dalam steroform & es

Pengujian *Salmonella* sp. pada Daging Ayam

1

Fitratul Insaniah Rusli

A. Latar Belakang

Salmonella sp. merupakan bakteri patogen yang menyebabkan keracunan makanan terhadap manusia dan tidak banyak ditemukan pada hewan. Salah satu contoh jenis *Salmonella* sp. yang sering ditemukan yaitu *Salmonella thypi*. *Salmonella* sp. biasanya hidup di saluran pencernaan terutama pada mukosa ileum. Adapun *Salmonella* sp. jenis lain yang dapat ditemukan pada hewan seperti *Salmonella typhimurium*, jenis ini dapat juga ditemukan pada manusia. *Salmonella* sp. termasuk bakteri gram negatif yang berbentuk basil (batang) serta memiliki flagel peritrik sebagai alat geraknya.

Penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella* sp. dinamakan Salmonellosis, banyak diakibatkan karna makanan yang tercemar oleh lingkungan yang kurang bersih. *Salmonella* sp. tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob dengan suhu pertumbuhan optimumnya 37,5°C. *Salmonella* sp. juga tidak dapat menfermentasi laktosa, tetapi menghasilkan gas dari glukosa dan manosa. juga tidak dapat menfermentasi laktosa, tetapi menghasilkan gas dari glukosa dan manosa.

Manusia dapat terinfeksi salmonellosis melalui makanan, terutama pada telur, daging sapi, daging unggas, air atau susu yang terkontaminasi. Proses pemasakan dapat mengurangi risiko infeksi, tetapi tidak sepenuhnya menghilangkan risiko infeksi tersebut. Makanan yang terinfeksi atau belum terinfeksi *Salmonella* sp. dapat diketahui dengan melakukan pengujian dalam skala laboratorium. Selain mengetahui makanan ini terinfeksi atau tidak, dalam laboratorium juga dapat diketahui jenis *Salmonella* sp. dengan menggunakan medium yang selektif. Metode yang digunakan pada pengujian *Salmonella* sp. ini yaitu metode kultur bakteri. Masyarakat sering mengonsumsi bahan pangan asal hewani seperti susu, telur, daging, nugget dan lain-lain, sehingga perlu adanya pengujian agar masyarakat tidak terjangkit penyakit salmonellosis apalagi hingga meregang nyawa akibat penyakit tersebut.

B. Tujuan Percobaan

Kerja Praktek yang telah dilakukan di Balai Besar Veteriner Maros bertujuan untuk memberikan pengalaman kerja bagi mahasiswa berupa berbagai teknik pengujian di beberapa laboratorium Balai Besar Veteriner Maros. Pengalaman kerja ini diharapkan dapat menjadi latihan bagi para mahasiswa untuk bekerja secara profesional sesuai bidang yang ditekuni. Salah satu pengujian penyakit hewan yang pernah kami lakukan di laboratorium Kesmavet yaitu pengujian *Salmonella* sp. pada daging ayam, setelah kegiatan ini diharapkan mahasiswa dapat melakukan teknik pengujian dan identifikasi *Salmonella* sp. khususnya pada sampel daging ayam.

C. Tinjauan Pustaka

Salmonella sp. adalah kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang dan tidak berspora. Bakteri ini ditemukan pada tahun 1880 pada penderita demam tifoid oleh Eberth dan dibenarkan oleh Robert Koch dalam budidaya bakteri pada tahun 1881. Bakteri ini memiliki sifat parasit yang menyebabkan reaksi peradangan tractus intestinal pada manusia dan hewan. *Salmonella* digolongkan dalam bakteri patogenik yang menjadi penyebab food borne disease yang disebut Salmonellosis. Di laboratorium, *Salmonella* dapat tumbuh pada suhu 5-47°C dan optimum pada suhu 35-37°C. pH pertumbuhan sekitar 4,0-9,0 dengan pH optimum 6,5-7,5 (Khaq dan Dewi, 2016).

Menurut Jawetz, dkk (2010) taksonomi *Salmonella* sp. sebagai berikut:

Kingdom: Bacteria

Divisi : Proteobacteria

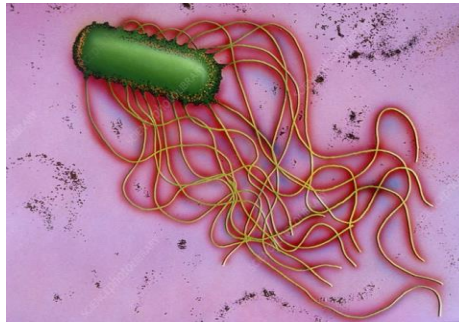
Kelas : Gamma proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Salmonella*

Spesies : *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A, *Salmonella thyphimurium*,
Salmonella choleraesuis, *Salmonella enteritidis*.



Gambar 1.1. *Salmonella* sp

Sumber: Googleimage

Salmonella merupakan bakteri yang tidak mampu memfermentasikan laktosa, sukrosa atau salicin, katalase positif, oksidase negatif dan manitol untuk memproduksi asam atau gas. *Salmonella* tidak dapat dibedakan dengan *E. coli* jika dilihat dengan mikroskop ataupun dengan menumbuhkannya pada media yang mengandung nutrisi umum. *Salmonella* mampu memfermentasi glukosa dan monosakarida lainnya dengan menghasilkan gas, lalu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon disaat genus lainnya membutuhkan sumber karbon kompleks sebagai sumber nutrisinya. Beberapa *Salmonella* kecuali *S. typhi* memproduksi gas selama proses fermentasi. *Salmonella* mampu mengubah nitrat menjadi nitrit dan tidak membutuhkan NaCl untuk pertumbuhannya (Arifin, 2015).

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengobati penyakit infeksi karena bakteri *Salmonella* yaitu dengan menggunakan antibiotik yang ditujukan untuk mengurangi infeksi dan mencegah terjadinya komplikasi yang serius. Upaya yang dilakukan untuk penanganan penyakit tersebut ternyata menimbulkan masalah baru, yaitu muncul strain *Salmonella* yang resisten terhadap antibiotik. Tingkat resistensi strain bakteri *Salmonella* sp. terhadap antibiotik juga telah berkembang dalam beberapa tahun terakhir, terutama terhadap antibiotik jenis aminopenicillines, tetrasiklin, sulfonamida dan kloramfenikol (Aulia,dkk, 2015).

D. Metode Kerja

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pengujian *Salmonella* sp. di laboratorium Kesmavet yaitu spatula, timbangan analitik, tabung erlenmeyer, tabung skot, tabung reaksi, rak tabung, stomacher, cawan petri, batang penyebar, Biological Safety Cabinet (BSC), kerancang sampel, jarum ose, waterbath,

inkubator dan autoklaf. Bahan yang digunakan yaitu daging ayam, plastik sampel, media *Lactose Broth* (LB), media *Rappaport Vassidialis* (RV), media *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD), media *Hektoen Enteric* (HE), media *Bismute Sulphite Agar* (BSA), dan aquades.

2. Prosedur Kerja

- a. Menimbang sampel 25 gr dan memasukkannya dalam plastik sampel.
- b. Menimbang medium LB sintetik sebanyak 13 gr untuk 1 liter aquades dan masukkan medium ke dalam botol scotch lalu menambahkan 1 liter aquades, setelah itu homogenkan medium menggunakan hotplate dan magnet stirer, setelah homogen melakukan sterilisasi medium menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- c. Setelah itu menambahkan 225 mL LB ke dalam plastik yang berisi sampel.
- d. Mestomacher sampel beserta medium LB selama 1-2 menit.
- e. Menimbang medium RV sintetik sebanyak 30 gr untuk 1 liter aquades dan masukkan medium ke dalam botol scotch lalu menambahkan 1 liter aquades, setelah itu homogenkan medium menggunakan hotplate dan magnet stirer, setelah homogen melakukan sterilisasi medium menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- f. Setelah melalui tahap sterilisasi masukkan medium RV ke dalam tabung reaksi masing-masing 9 mL.
- g. Memasukkan ekstraksi sampel sebanyak 0,1 mL ke dalam tabung reaksi yang berisi medium RV.
- h. Menginkubasinya selama 24±2 jam pada suhu 42°C.
- i. Menimbang medium selektif seperti XLD, HE dan BSA. Menimbang medium XLD sebanyak 53 gr untuk 1 liter aquades, medium HE sebanyak 76 gr dalam 1 liter aquades dan medium BSA sebanyak 20gr dalam 500ml aquades dan masukkan medium ke dalam botol scotch yang berisi masing-masing aquades, setelah itu homogenkan medium menggunakan hotplate dan magnet stirer, setelah homogen melakukan sterilisasi medium menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- j. Setelah itu menginokulasikan medium RV yang berisi *Salmonella* sp. ke medium XLD, HE dan BSA.

- k. Kemudian menginkubasi kembali medium XLD, HE dan BSA yang telah diinokulasi selama 24 ± 2 jam pada suhu 35°C .

Menurut Feng (2007), identifikasi bakteri *Salmonella* sp. yaitu :

1. Tahap Pra-Pengkayaan

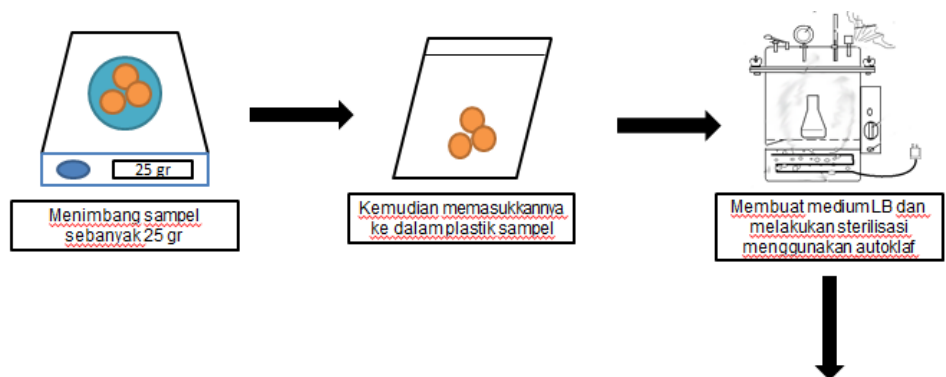
Sebanyak 25 gram sampel ditimbang ke dalam botol yang berisi 225 ml media Buffered Peptone Water (BPW). Sampel dihomogenkan dengan stomacher selama 1 menit. Kemudian di inkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Adanya pertumbuhan ditandai dengan kekeruhan dan bau yang khas.

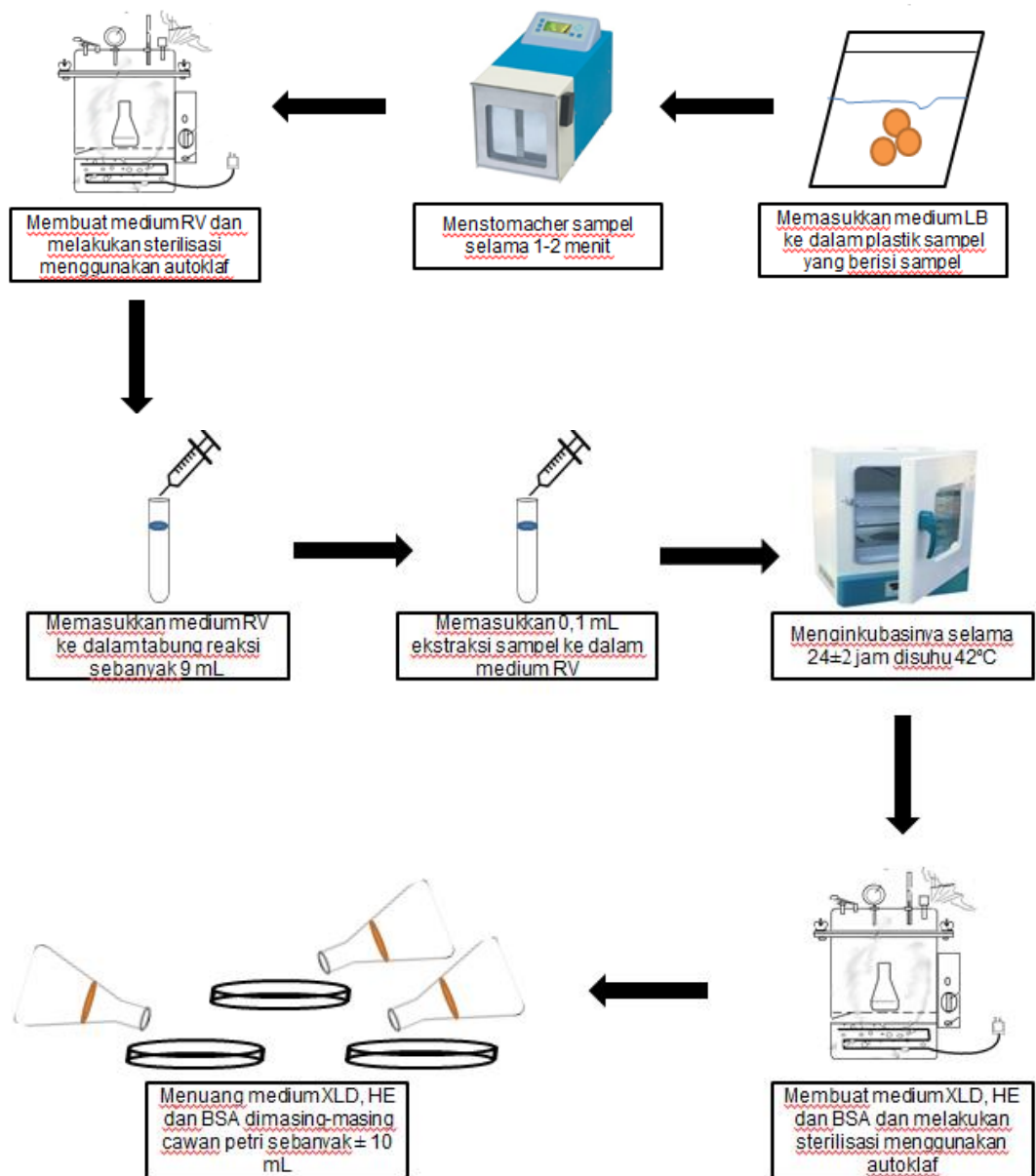
2. Tahap Pengkayaan

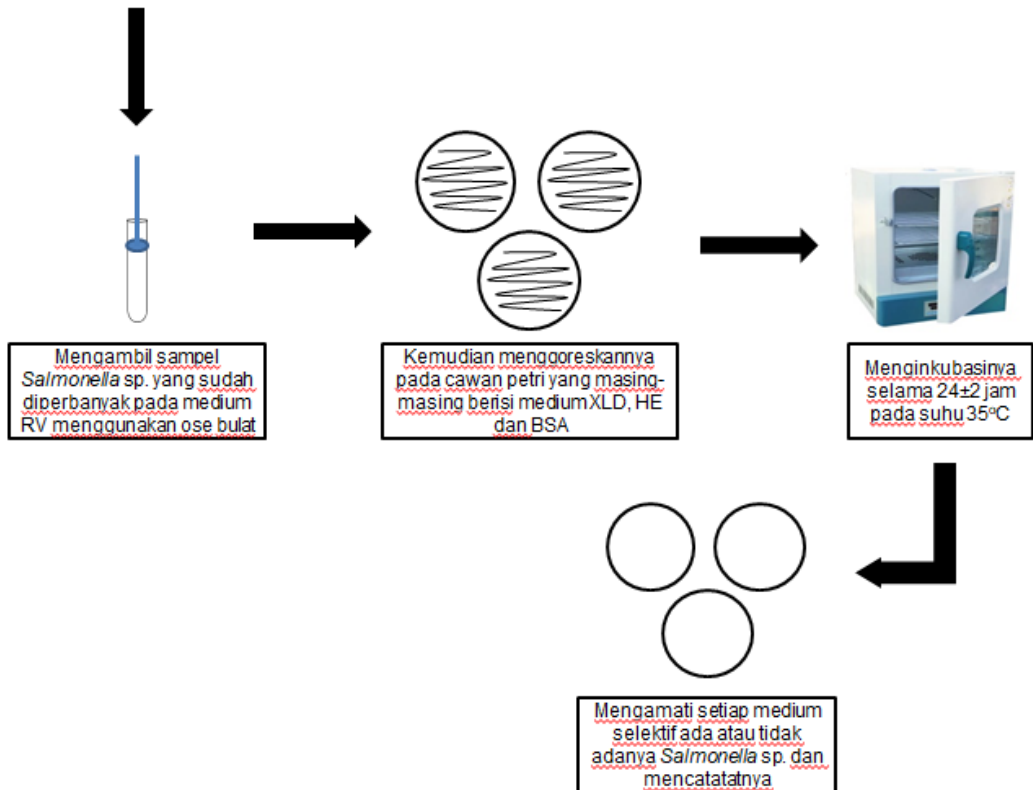
Sebanyak 0.1 ml BPW yang telah di inkubasi dimasukkan ke dalam 10 ml media RV. Proses inkubasi pada media RV dilakukan dalam waterbath yang bersuhu $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama $24 \text{ jam} \pm 2 \text{ jam}$.

3. Seleksi pada Media

Selektif Sebanyak 1 ose bakteri dari media RV diinokulasikan pada media XLD dan BSA dengan metode streak plate. Proses inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama $24 \text{ jam} \pm 2 \text{ jam}$. Bakteri yang tumbuh dan diduga *Salmonella* sp. pada medium XLD memiliki ciri-ciri koloni berwarna merah muda dengan atau tanpa titik hitam atau terlihat hampir seluruh koloni hitam. Sedangkan pada media BSA, bakteri terduga *Salmonella* sp. berwarna ungu.




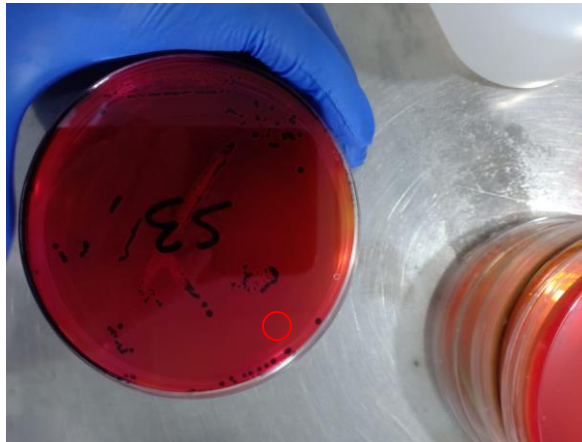




E. Hasil dan Pembahasan

1. Hasil Pengamatan

Hasil	Keterangan
	Media XLD <i>Salmonella</i> sp. (-)



Media XLD *Salmonella*
sp. (+)

2. Pembahasan

Tahapan awal pada pengujian *Salmonella* sp. yaitu tahap pra-enrichment atau tahap pra-pengayaan yang berfungsi memperbanyak *Salmonella* sp. Deteksi *Salmonella* sp. pada pra pengkayaan menggunakan media *Lactose Broth* (LB) jika sampelnya padat, contohnya daging sapi atau daging unggas. Berbeda jika sampelnya cair contohnya susu atau telur, tidak lagi menggunakan medium *Lactose Broth* (LB). Pada media *Lactose Broth* (LB), laktosa akan difermentasi oleh sebagian besar bakteri non-*Salmonella* sehingga menyebabkan penurunan pH media. Penurunan pH media akan menghambat pertumbuhan bakteri non-*Salmonella*, sementara bakteri *Salmonella* dapat tetap tumbuh. Pada tahap ini inkubasi dilakukan pada suhu 37°C dan dianggap positif jika terjadi kekeruhan di media LB.

Tahapan selanjutnya yaitu tahap enrichment, dimana berfungsi untuk menekan pertumbuhan bakteri kompetitif lain sehingga hanya bakteri *Salmonella* sp. yang dapat tumbuh. Medium yang digunakan pada tahap enrichment yaitu medium *Rappavort Vasilidiasis* (RV). Medium RV merupakan medium selektif. Pertumbuhan *Salmonella* sp. didukung dengan adanya *soy peptone* di dalam medium RV yang berfungsi sebagai sumber karbon, nitrogen dan asam amino bagi *Salmonella* sp.. Menurut Budiarmo dan Belo (2009), medium RVS (*Rappaport-Vassidialis Soya*) broth yang digunakan untuk tahap enrichment culture. Medium ini mengandung *malachite green* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif, kandungan *sodium chloride* akan memberi tekanan osmosis yang relatif tinggi, sedangkan *potassium dihydrogen phosphate* berfungsi sebagai larutan

buffer bagi medium sehingga pH medium dapat terkendali selama inkubasi serta *magnesium klorida* yang dikombinasikan dengan pH $5,2 \pm 2$ berfungsi untuk menghambat pertumbuhan mikroba alami yang berasal dari saluran pencernaan selain *Salmonella* sp.

Selanjutnya tahap isolasi dan identifikasi, dimana menggunakan tiga media selektif yaitu media *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD), media *Hektoen Enteric* agar (HE) dan media *Bismute Sulphite Agar* (BSA). Dari ketiga media yang berbeda ini akan ditemukan koloni spesifik yang diindikasikan *Salmonella* sp. Pada media XLD, jika positif, koloni terlihat merah muda dengan atau tanpa titik mengkilat atau terlihat hampir seluruh koloni hitam. Pada media HE, jika positif, koloni berwarna hijau kebiruan dengan atau tanpa titik hitam (H_2S).

Sedangkan pada media BSA, adanya *bismuth sulfite* dan *brilliant green* dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Adanya *Ferro Sulfite* dalam media akan diubah menjadi H_2S yang berperanan mengendapkan besi, sehingga jika positif, koloni berwarna coklat, abu-abu atau hitam, dengan kilap logam, dan sekeliling koloni biasanya akan berwarna coklat tampak seperti mata kelinci dan semakin lama waktu inkubasi akan berubah menjadi hitam.

Menurut Hyatt & Weese (2004), berbagai macam media untuk pengujian bakteri *Salmonella* saat ini bermacam-macam, yang bertujuan untuk pebandingan koloni yang tumbuh dari masing-masing medium. Medium XLD memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif karena memiliki kandungan sodium deoxycholate, dan mengandung tiosulfat sebagai indikator H_2S yang terlihat pada koloni yang tumbuh dalam media XLD. Media BSA mengandung enzim caprylate esterase yang berfungsi untuk melisiskan kromofor sehingga koloni tipikal bakteri *Salmonella* berwarna ungu. Berikut ini merupakan gambar dari koloni tipikal *Salmonella* spp. yang tumbuh dalam medium BSA dan XLD.

Pengujian *Salmonella* sp. yang kali ini dilakukan menggunakan sampel telur. Sampel telur diambil sebanyak 0,1 mL langsung dimasukkan ke dalam media RV. Kemudian diinkubasi selama 24 ± 2 jam pada suhu $35^\circ C$. setelah proses enrichment pada media RV, inokulasikan ke media selektif XLD, HE dan BSA dengan metode gores. Dan diinkubasi selama 24 ± 2 jam pada suhu

35°C. Hasilnya pada media XLD sampel yang negatif adanya *Salmonella* dengan tidak terlihatnya koloni yang berwarna merah muda dengan atau tanpa titik mengkilat atau koloni yang berwarna hitam. Namun ada juga sampel pada media XLD yang positif *Salmonella* sp.. Sedang pada media HE terlihat koloni berwarna hijau kebiruan dan media BSA terlihat koloni coklat sampai kehitaman.

F. Kesimpulan

1. Pengujian *Salmonella* sp. melalui beberapa tahap, mulai dari tahap pra-pengkayaan, selanjutnya tahap enrichment dan tahap isolasi serta identifikasi dengan metode kultur bakteri.
2. Tahap pra-pengkayaan menggunakan media LB jika sampelnya berbentuk padat, tahap enrichment menggunakan media RV dan tahap isolasi serta identifikasi menggunakan media selektif yaitu media XLD, HE dan BSA.

G. Referensi

- Aulia, Rizky., Handayani, Tri., Yennie, Yusma. 2015. Isolasi, Identifikasi dan Enumerasi Bakteri *Salmonella* sp. pada Hasil Perikanan serta Resistensinya terhadap Antibiotik. *Biologi UNJ Press*. Vol.11 (01) : 15-33.
- Arifin, Ita Masita. 2015. *Deteksi Salmonella sp. pada Daging Sapi di Pasar Tradisional dan Pasar Modern di Kota Makassar*. Universitas Hasanuddin : Makassar.
- Budiarso, Tri Yahya., Belo, Maria Jose Ximenes. 2009. *Deteksi Cemarkan Salmonella Sp pada Daging Ayam yang Dijual di Pasar Tradisional di Wilayah Kota Yogyakarta*. Universitas Negeri Yogyakarta : Yogyakarta.
- Feng, P. 2007. *Bacteriological Analytical Manual (BAM) Salmonella*. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>, 25 Desember 2019.
- Hyatt, D. R. dan Weese, J. S. 2004. *Salmonella culture: Sampling procedures and laboratory techniques*. *Vet. Clin. N. Am-Equine*. 20(3).
- Jawetz., Melnick., Adelberg. 2010. *Medical Microbiology*. Atlanta.
- Khaq, Khanifa Nurul., Dewi, Lusiawati. 2016. Deteksi Cemarkan Bakteri Koliform dan *Salmonella* sp. pada Tempe yang Dikemas Daun Pisang di Daerah Salatiga. *Jurnal Ilmu Pertanian : AGRIC*. Vol. 28 (1 dan 2) : 79-86.

Pengujian *Staphylococcus aureus* pada Daging Ayam

2

Almi Abdila

A. Latar Belakang

Kualitas suatu makan yang dikonsumsi manusia dipengaruhi oleh mikroorganisme. Mikroorganisme dapat ditemukan di mana saja di lingkungan sekitar manusia termasuk manusia itu sendiri. Sehingga besar kemungkinan mikroorganisme dapat mencemari makanan. Mikroorganisme dapat tumbuh dengan baik pada makanan karena mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme dan memiliki ketahanan yang tinggi terhadap proses pemanasan maupun dalam suhu yang dingin. Salah satu mikroorganisme yang dapat mengontaminasi makanan adalah bakteri.

Bakteri, ada yang bersifat menguntungkan ada yang bersifat patogen. Bakteri patogen merupakan bakteri yang memiliki potensi menimbulkan penyakit baik pada hewan maupun manusia. Bakteri patogen dalam jumlah diluar ambang batas yang terdapat pada suatu bahan pangan dapat menimbulkan penyakit bagi yang mengonsumsinya. Ada banyak faktor yang menyebabkan suatu makanan dapat terkontaminasi oleh bakteri. Diantaranya adalah manajemen pengolahannya yang kurang bersih, kurangnya sanitasi dan sebagainya.

Salah satu bakteri yang paling banyak ditemukan mencemari bahan pangan adalah *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen gram positif berbentuk bulat tunggal dan kadang berpasangan tetapi lebih sering bergerombol seperti anggur. Bakteri ini merupakan bakteri yang normal ditemukan pada rongga saluran pernapasan, saluran pencernaan dan permukaan kulit pada manusia. *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan bermacam-macam penyakit seperti infeksi pada kulit, infeksi paru-paru, meningitis dan lain-lain. Penyebab bakteri ini ditemukan pada makanan kemungkinan karena selama pengolahannya tidak mencuci tangan atau kurangnya sanitasi sehingga air yang digunakan mencemari bahan makanan. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan keracunan makanan. Hal ini karena, bakteri ini memproduksi enterotoksin yang bersifat toksik, resisten terhadap panas dan kekeringan.

Staphylococcus aureus sensitif terhadap panas tetapi enterotoksin yang dihasilkannya resisten terhadap panas sehingga tidak akan rusak selama proses pemanasan. Makanan seperti susu, telur, daging dan bahan olahannya adalah jenis makanan yang paling umum tercemar oleh bakteri ini.

Beberapa pengujian dilakukan untuk mengetahui keberadaan *Staphylococcus aureus* dalam bahan pangan. Dalam pengujiannya digunakan medium tertentu untuk mengisolasi dan memperbanyak bakteri. Untuk mempermudah dalam mengisolasi maka digunakan medium selektif untuk mengisolasi. Berdasarkan uraian diatas maka dilakukan uji keberadaan *Staphylococcus aureus* dalam bahan pangan untuk mengetahui bagaimana proses pengujian dan jenis medium yang digunakan.

B. Tujuan Percobaan

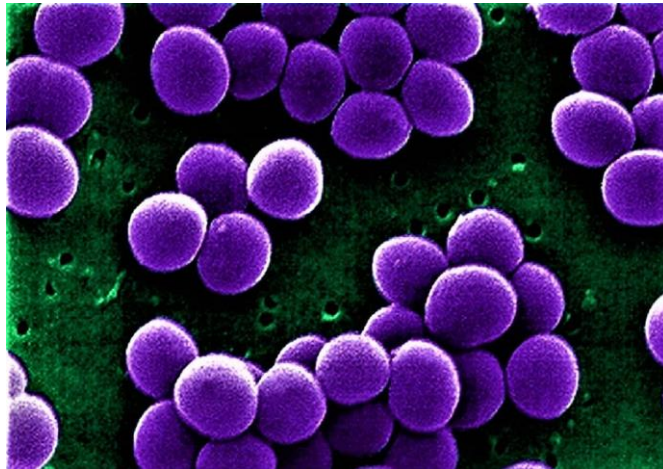
Tujuan dilakukannya pengujian ini adalah agar mahasiswa dapat mendapatkan pengalaman dengan melakukan prosedur teknik pengujian *Staphylococcus aureus* pada bahan pangan seperti daging ayam dan mengetahui medium yang digunakan untuk mengisolasi bakteri *Staphylococcus aureus* daging ayam.

C. Tinjauan Pustaka

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk bulat berpasang-pasangan atau seperti buah anggur dengan diameter 0.8 mikron-1.0 mikron, non motil, tidak berspora dan bersifat gram positif. Bakteri ini sering ditemukan sebagai mikroflora normal pada kulit dan selaput lendir pada manusia. Dapat menjadi penyebab infeksi baik pada manusia maupun pada hewan. Jenis bakteri ini dapat memproduksi enterotoksin yang menyebabkan pangan tercemar dan mengakibatkan keracunan pada manusia. Bakteri ini tumbuh dengan baik pada suhu tubuh manusia dan juga pada pangan yang disimpan pada suhu kamar serta menghasilkan toksin pada suhu tersebut. Toksin ini disebut enterotoksin karena dapat menyebabkan gastroenteritis atau radang lapisan saluran usus (Lutfi, 2014).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Latifah (2014), diketahui bahwa bentuk *S. aureus* yang tumbuh di atas media *Baird Parker Agar + egg yolk tellurite* adalah koloni berwarna hitam, konveks, terdapat zona bening dan opak di sekitar koloni. Hal tersebut sesuai dengan literatur karena *Baird Parker Agar* (BPA) mengandung karbon dan nitrogen sumber kebutuhan pertumbuhan *S. aureus*. Glisin, lithium klorida, dan potassium tellurit dalam *Baird Parker Agar* (BPA)

berperan sebagai *selective agents*. *Egg yolk* adalah substrat untuk mendeteksi produksi lesitinase dan aktivitas lipase. *Staphylococcus aureus* memproduksi koloni abu-abu gelap hampir hitam karena mereduksi tellurite. *S. aureus* yang memproduksi lesitinase memecah *egg yolk* dan menyebabkan zona bening disekitar koloni.



Gambar 2.1. *Staphylococcus aureus*

Sumber: apic.org

Baird Parker Agar (BPA) adalah media selektif dan diferensial untuk mengisolasi dan memperbanyak *Staphylococcus aureus* yang terdapat dalam makanan, lingkungan, dan bahan klinis. BPA secara umum digunakan dan dimasukkan ke dalam banyak prosedur standar untuk menguji makanan, kosmetik, atau air kolam renang yang terdapat *S. aureus*. Media ini tidak digunakan untuk mengisolasi *Staphylococcus* lain kecuali *S. aureus*. *Baird Parker Agar* (BPA) mengandung karbon dan nitrogen sumber kebutuhan pertumbuhan *S. aureus*. Glisin, lithium klorida, dan potassium tellurit berperan untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme lain selain *staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* memproduksi koloni abu-abu gelap hampir hitam karena mereduksi potassium tellurite. *Staphylococcus aureus* yang mengandung lesitinase memecah *egg yolk* dan menyebabkan zona bening disekitar koloni. Sebuah zona opak mungkin juga terbentuk karena aktivitas lipase. Konfirmasi pertumbuhan *S. aureus* di media *Baird Parker Agar + egg yolk tellurite* berguna untuk mengetahui bentuk morfologi dari *S. aureus* ketika ditumbuhkan di media tersebut. *Baird Parker Agar* (BPA)

adalah salah media untuk isolasi dan perbanyakan *S. aureus* serta membedakannya dari *Staphylococcus* yang lain (Latifah, 2014).

Rahmi (2015) menyatakan bahwa bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. Infeksi kulit yang biasanya disebabkan oleh *S. aureus* yaitu impetigo, selulitis, folikulitis, dan abses. Infeksi *S. aureus* yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, infeksi saluran kemih, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama sindrom syok toksik.

Secara umum, *S. aureus* tidak tahan panas. Tetapi, toksin yang dihasilkannya tahan panas, sehingga tidak dapat dihancurkan dengan pemanasan yang biasa digunakan dalam proses pemasakan. Toksin yang dihasilkan tidak menyebabkan makanan mengalami perubahan warna, tekstur, bau ataupun rasa, sehingga tidak dapat terlihat secara fisik. Kondisi ini seringkali menyebabkan konsumen mengalami *Staphylococcal food poisoning* (Palupi dkk, 2010). *S. aureus* pada produk bahan pangan merupakan penyebab *toxic shock syndrome* yang merupakan akibat dari keracunan bahan pangan. *Staphylococcal enterotoxin* (SE) adalah agen yang terdapat pada makanan yang dapat menimbulkan sindrom keracunan makanan baik pada hewan maupun pada manusia (Dinges dkk, 2000).

Bahan pangan yang berasal dari hewan ternak memiliki resiko yang tinggi terkontaminasi oleh cemaran mikroba yang berbahaya untuk kesehatan manusia. Makanan yang tercemar dapat menimbulkan sindrom salah satu mikroba yang dapat menyebabkan sindrom syok toksik. Salah satu mikroba yang dapat menyebabkan sindrom ini adalah *Staphylococcus aureus*. Mikroba ini dapat berasal dari daging hewan ternak. Setelah hewan ternak dipotong, maka mikroba pada hewan akan merusak jaringan sehingga daging hewan akan mengalami kerusakan. Mikroba dapat berasal dari saluran pencernaan. Apabila mikroba dari saluran pencernaan mencemari daging hewan ternak maka daging tersebut akan membawa bakteri patogen. Daging unggas sangat berpotensi sebagai tempat berkembangnya mikroba pathogen sebab unggas dalam kehidupannya seringkali bersentuhan dengan lingkungan yang kotor. Berdasarkan penelitian, ketidakamanan daging unggas serta produk olahannya disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya tingkat pengetahuan peternak yang rendah, kebersihan kandang dan sanitasi air dan pakan (Djafar dan Rahayu, 2007)

D. Metode Kerja

1. Alat dan Bahan

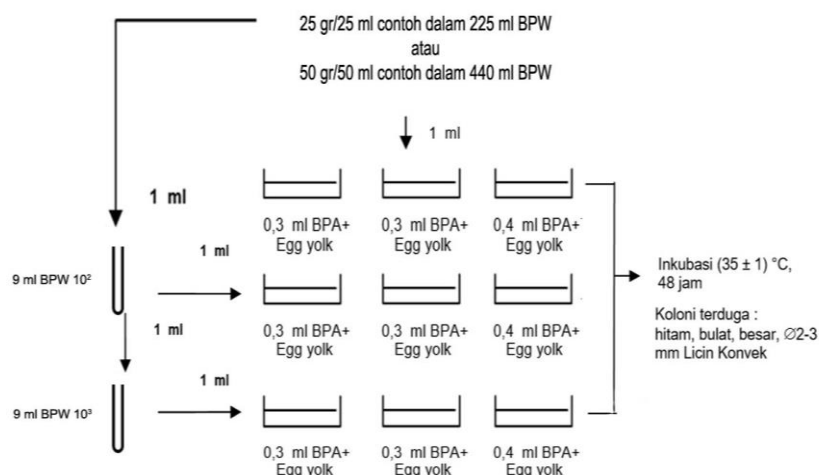
Alat yang digunakan dalam pengujian ini adalah gunting, pinset, timbangan, *stomacher*, tabung reaksi, *vortex*, botol scotch, *magnetic stirrer*, spiritus, cawan petri, *micropipet*, batang penyebar, inkubator, dan autoclave. Adapun bahan yang digunakan dalam pengujian ini adalah daging ayam, *Bufferd Pepton Water* (BPW), *Baird Parker Agar* (BPA), *Egg yolk tellurite emulsion*, akuades dan plastik steril.

2. Prosedur Kerja

Berikut ini adalah prosedur kerja pengujian *Staphylococcus aureus* menurut SNI 2897:2008.

- a. Menimbang medium BPA sintetik sebanyak 63 gr untuk 1 liter aquades menggunakan neraca analitik. Lalu memasukkan medium ke dalam botol scotch dan menambahkan aquades sebanyak 1 liter lalu menghomogenkan menggunakan hotplate dan magnetik stirrer.
- b. Menimbang medium BPW sebanyak 20 gr untuk 1 liter aquades. Lalu memasukkan medium ke dalam botol scotch dan menambahkan aquades sebanyak 1 liter lalu menghomogenkan menggunakan hotplate dan magnetik stirrer.
- c. Menimbang sampel daging ayam padat seberat 25 gr kemudian memasukkan ke dalam kantong steril.
- d. Menambahkan 225 ml larutan *BPW* steril ke dalam kantong steril yang berisi sampel daging ayam, lalu menghomogenkan dengan *stomacher* selama 1-2 menit. Ini merupakan larutan dengan pengenceran 10^{-1} . Kemudian membuat pengenceran 10^{-2} dengan cara memindahkan 1 ml dari pengenceran 10^{-1} ke dalam 9 ml *BPW*. Pengenceran 10^{-3} dibuat dengan memindahkan 1 ml dari pengenceran 10^{-2} ke dalam 9 ml *BPW*.
- e. Menuang 15-20 ml media *BPA* yang sudah ditambah dengan *egg yolk tellurite emulsion* (5 ml ke dalam 95 ml media *BPA*) pada masing-masing cawan yang akan digunakan dan membiarkannya sampai memadat.

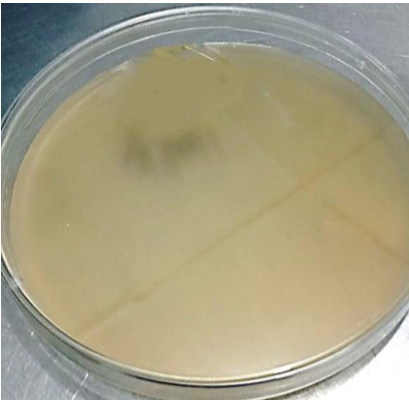
- f. Memipet 1 ml suspensi dari setiap pengenceran, dan menginokulasikan masing-masing 0,4 ml, 0,3 ml, 0,3 ml pada 3 cawan petri berisi media menggunakan *micropipet*.
- g. Meratakan suspensi di atas permukaan media agar dengan menggunakan batang penyebar dan membiarkannya sampai suspensi terserap.
- h. Menginkubasikan pada suhu 35°C selama 45-48 jam pada posisi terbalik.
- i. Koloni *S. aureus* mempunyai ciri khas bundar, licin dan halus, cembung diameter 2 mm sampai dengan 3 mm, berwarna abu-abu sampai hitam pekat, dikelilingi zona opak, dengan atau tanpa zona luar yang terang (*clear zone*).

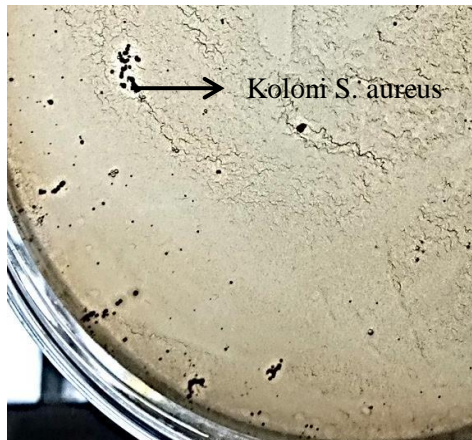


Gambar 2.2. Skema prosedur kerja pengujian *Staphylococcus aureus*
Sumber: SNI 2332.9:2011

E. Hasil dan Pembahasan

1. Hasil Pengamatan

Gambar	Keterangan
	Medium BPA setelah diinokulasikan suspensi



Koloni *S. aureus* setelah diinkubasi selama 24 jam pada medium BPA.

2. Pembahasan

Sampel yang digunakan dalam pengujian ini berupa sampel padat, sehingga sampel ditimbang sebanyak 25 gr. Apabila sampel yang digunakan berupa cairan atau semi padat maka digunakan sebanyak 25 ml. Tahap pertama dalam pengujian ini adalah tahap pengenceran. Sampel diencerkan di dalam *buffered pepton water* sampai dengan pengenceran 10^{-3} .

Tahapan selanjutnya adalah tahap mengisolasi bakteri *Staphylococcus aureus* dari sampel yang diujikan. Adapun medium yang digunakan adalah medium BPA. *Baird Parker Agar* (BPA) adalah media selektif dan diferensial untuk mengisolasi dan memperbanyak *Staphylococcus aureus* yang terdapat dalam makanan, lingkungan, dan bahan klinis. BPA secara umum digunakan dan dimasukkan ke dalam banyak prosedur standar untuk menguji makanan, kosmetik, atau air kolam renang yang terdapat *S. aureus*. Media ini hanya digunakan untuk mengisolasi *S. aureus* dan tidak digunakan untuk *Staphylococcus* yang lain. Sebelum dituang ke dalam cawan petri ditambahkan *egg yolk emulsion* ke dalam media BPA. Media BPA+*egg yolk* dituang sebanyak 15-20 ml ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Proses ini dilakukan di dalam *Biological Safety Cabinet* (BSC). Kemudian sebanyak 1 ml dari masing-masing pengenceran diambil dan diinokulasikan pada tiga cawan petri berisi medium yang telah padat. Masing-masing cawan petri diinokulasikan sebanyak 0,3 ml, 0,3 ml dan 0,4 ml sehingga totalnya 1 ml. Setelah itu, suspensi diratakan menggunakan batang penyebar lalu dibiarkan

sampai menyerap. Inokulasi dilakukan secara aseptis yaitu dilakukan di dekat api bunsen.

Hasil yang didapatkan dari pengujian ini adalah sampel daging ayam positif mengandung bakteri *Staphylococcus aureus*. Bentuk koloni *Staphylococcus aureus* yang terbentuk di media *Baird Parker Agar+egg yolk* adalah koloni berwarna hitam, konveks, dan terdapat zona bening di sekeliling koloni. *Baird Parker Agar* (BPA) mengandung karbon dan nitrogen sumber kebutuhan pertumbuhan *S. aureus*. Glisin, lithium klorida, dan potassium tellurit dalam *Baird Parker Agar* (BPA) berperan sebagai *selective agents*. *Egg yolk* adalah substrat untuk mendeteksi produksi lesitinase dan aktivitas lipase. *Staphylococcus aureus* memproduksi koloni abu-abu gelap hampir hitam karena menghasilkan lesitinase yang mereduksi *tellurite* pada kuning telur. *Staphylococcus aureus* yang memproduksi lesitinase memecah *egg yolk* dan menyebabkan zona bening disekitar koloni. Kandungan sodium piruvat pada medium *Baird Parker Agar* juga berfungsi untuk merangsang pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Mengonsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh mikroba patogen dapat menyebabkan penyakit yang disebut dengan *Foodborne disease*. *Foodborne disease* digolongkan menjadi dua yaitu, *Food Infection* dan *Food Intoxication*. *Food Infection* terjadi karena mengonsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi mikroorganisme seperti *Clostridium perfringens*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Salmonella* spp, sedangkan *food intoxication* terjadi karena termakannya

Sanitasi kandang yang kurang baik dapat meningkatkan cemaran mikroba patogen yang tidak diinginkan. Menurut Phadmacanty dkk (2016) *Staphylococcus aureus* merupakan mikroba penyebab kasus infeksi pada manusia paling besar di dunia. Menurut Palupi (2010) gejala keracunan makanan yang terkontaminasi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah mual, muntah, hipotermia, kram perut, diare, berkeringat, pusing, lemah, dan lesu dimulai dari 1-6 jam setelah mengonsumsi makanan yang tercemar *Staphylococcus aureus*.

Menurut Palupi (2010), bakteri *Staphylococcus aureus* tidak hanya berasal dari daging ayam tetapi juga bisa berasal dari pedagang yang mengolah

daging tersebut karena bakteri yang mencemari daging ayam bisa berasal dari berbagai tahap pemrosesan daging ayam itu sendiri termasuk pedagang atau pekerja di rumah potong unggas. Hal ini karena tubuh hewan dan tubuh manusia umumnya merupakan habitat bagi *Staphylococcus aureus*. Pada manusia, *Staphylococcus aureus* ini biasanya ditemukan pada rongga hidung, tenggorokan dan permukaan kulit.

Tahap yang berpotensi bagi daging ayam untuk tercemar adalah tahap penerimaan dan penggantungan, penyembelihan dan pencabutan bulu, pengeluaran jeroan, pendinginan dan pemotongan. Namun, pada tahap pendinginan tidak berpotensi tinggi karena suhu yang dingin bisa menekan pertumbuhan bakteri (Palupi dkk, 2010). Untuk menghasilkan *Staphylococcal enterotoxin* jumlah minimum *S. aureus* harus mencapai 1×10^5 cfu/g makanan. Hasil yang didapatkan dari pengujian merupakan pengamatan setelah inkubasi selama 24 jam sehingga belum dilakukan perhitungan karena perlu diinkubasi lagi hingga 45-48 jam.

F. Kesimpulan

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan bahwa tahap pertama yang dilakukan adalah pengenceran sampel dengan menggunakan medium BPW (*Buffered Pepton Water*) sebagai larutan pengencer dan selanjutnya adalah tahap isolasi menggunakan medium BPA (*Baird Parker Agar*)+egg yolk sebagai medium selektif yang hanya dapat menumbuhkan *Staphylococcus aureus*.

G. Referensi

- Dinges, M.M., P.M. Orwin, and P.M. Schlievert. 2000. Enterotoxin of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Review*. 13 (1) : 16-34.
- Latifah, N. 2014. Label Indikator Pendeteksi *Staphylococcus aureus* Berbahan BPA (*Baird Parker Agar*) dan *Egg Yolk Tellurite*. *Skripsi*. Departemen Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor Bogor.
- Rahmi, Y., Darmawi, Abrar, M., Jamin, F., Fakhrurrazi, dan Fahrimal, Y. 2015. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Preputium Dan Vagina Kuda (*Equus caballus*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 9 (2): 154-158.
- Palupi, K.T., Adiningsih, M.W., Sunartatie, T., Afiff, U., Purnawarman, T. 2010. Pengujian *Staphylococcus aureus* Pada daging Ayam Beku yang

Dilalulintaskan Melalui Pelabuhan Penyebrangan Merak. *Hamera Zoa*. 2 (1): 9-14.

Lutfi, Amanati. 2014. Uji Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Bacillus Cereus* Pada Produk Mi Instan Yang Beredar Di Pasaran. *Berita Litbang Industri*. 3 (2) : 73 – 80.

SNI 2332.9:2011. 2011. *Cara Uji Mikrobiologi – Bagian 9: Penentuan *Staphylococcus aureus* pada Produk Perikanan*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.

SNI 2897:2008. 2008. *Metode Pengujian Cemarkan Mikroba dalam Daging, Telur, dan Susu*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.

Pengujian *Escherichia coli*/Koliform pada Daging Ayam

3

Wulan Purnamasari

A. Latar Belakang

Pada era globalisasi, banyak teknologi yang berkembang, khususnya dalam bidang pangan. Untuk menambah wawasan pengetahuan serta pengalaman di dalam dunia pangan, mahasiswa Program Studi Biologi Universitas Negeri Makassar diwajibkan melaksanakan Kerja Praktek (KP). Kerja praktek merupakan salah satu sarana untuk menemukan relevansi ilmu yang diperoleh dengan implementasi dilapangan. Diharapkan melalui kerja praktek ini, akan memperoleh gambaran nyata serta pengalaman mengenai sistematika dan struktur organisasi kerja, penerapan disiplin ilmu pengetahuan serta aspek sosial, ekonomis, dan teknis dilapangan, sehingga diharapkan seorang mahasiswa dapat mencapai kualifikasi yang diharapkan oleh dunia kerja nantinya.

Kerja Praktek ini dilakukan di Balai Besar Veteriner Maros atau disingkat dengan nama BBVET, Balai Besar Veteriner Maros ini merupakan Balai penelitian yang bertugas melaksanakan pengamatan dan pengidentifikasian diagnosa, pengujian veteriner dan produk hewan, serta pengembangan teknik dan metode penyidikan, diagnosa, dan pengujian veteriner. BBVET Maros ini memiliki 9 laboratorium yang digunakan untuk melakukan berbagai pengujian, Salah satu Laboratoriumnya yaitu Kesehatan Masyarakat Veteriner (KESMAVET).

Laboratorium Kesmavet adalah segala urusan yang berhubungan dengan hewan, produk hewan maupun hasil olahannya yang secara langsung atau tidak langsung mempengaruhi kesehatan manusia, Laboratorium Kesmavet ini melakukan pengujian berbagai Bahan Pangan, dan hasil olahannya. Salah satu Pengujian yang dilakukan di Laboratorium Kesmavet ini yaitu Pengujian E.coli pada sampel daging sapi maupun ayam.

Pengujian E.coli/ Koliform ini dilakukan karena daging yang dijual dipasaran merupakan tempat yang rawan dan sangat berisiko cukup tinggi terhadap cemaran mikroba pathogen. Daging yang mengandung cukup tinggi cemaran mikroba pathogen sangat berbahaya bagi Masyarakat yang akan mengkonsumsinya, apalagi

jika daging tersebut terdapat bakteri E.coli/ koliform yang dimana bakteri e.coli ini jika bakteri ini memasuki saluran pencernaan melalui bahan makanan seperti bahan asal hewan dan produk olahannya dapat menyebabkan diare yang akut (gastroenteritis). Sehingga laboratorium kesmavet ini melakukan pengujian cemaran mikroba yaitu Pengujian e.coli/ koliform dengan metode klorimetrik.

B. Tujuan

Untuk melakukan tehnik pengujian e.coli/coliform pada sampel daging ayam

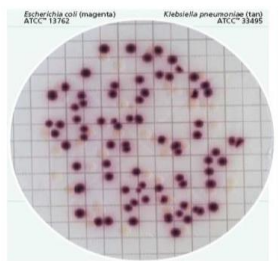
C. Tinjauan Pustaka

Bakteri adalah makhluk bersel tunggal yang tidak mempunyai inti sel, hidup di semua kolom air dan tanah, beberapa bersifat aerobik (memerlukan oksigen) dan ada yang anaerobik (tidak memerlukan oksigen). Beberapa bakteri hidup bebas sendiri (free living) dan ada yang hidup bersama-sama (symbionts). Bakteri E. coli adalah salah satu jenis bakteri yang sering dibicarakan. Cukup banyak masyarakat yang mengetahui tentang E. coli walaupun terbatas bahwa bakteri ini adalah penyebab infeksi saluran pencernaan (Sutiknowati, 2016).

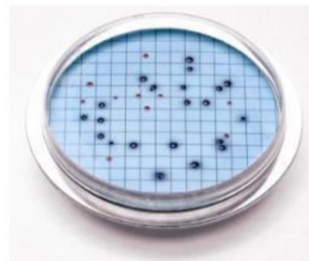
Escherichia coli merupakan salah satu bakteri Coliform yang sering mencemari daging sapi. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Balia dkk., (2011) dari sampel daging yang diambil di hypermarket di Bandung, seluruh sampel terkontaminasi oleh bakteri Coliform. Bakteri Coliform yang mengkontaminasi sebagian besar adalah Escherichia coli yang merupakan flora normal saluran pencernaan manusia dan hewan, namun jika bakteri ini memasuki saluran pencernaan melalui bahan makanan seperti bahan asal hewan dan produk olahannya dapat menyebabkan diare yang akut (gastroenteritis) sehingga sangat perlu diwaspadai. Penularan Escherichia coli pada manusia bisa melalui kontak langsung dengan hewan, konsumsi daging yang tidak dimasak dengan sempurna, dan air yang telah terkontaminasi. Oleh karena itu penting untuk memasak produk makanan sebaik-baiknya sebelum dikonsumsi, Escherichia coli dapat musnah karena mikroba ini bersifat sensitif terhadap panas pada suhu 60°C selama 30 menit (Jose dkk, 2014). Bakteri E. coli ditemukan pada tahun 1885 oleh Theodor Escherich dan diberi nama sesuai dengan nama penemunya. E. coli merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 micrometer dan diameter 0.5 micrometer. Volume sel E. coli berkisar 0.6-0.7 m³. Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 20-40 °C dengan suhu optimumnya pada 37 °C dan tergolong bakteri gram negatif.

Domain : Bacteria
Kingdom : Eubacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Order : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*

Bakteri ini dapat ditemukan dalam usus besar manusia. Kebanyakan *E. Coli* tidak berbahaya, tetapi beberapa seperti *E. Coli* tipe O157:H7 dapat mengakibatkan keracunan makanan yang serius pada manusia yaitu diare berdarah karena eksotoksin yang dihasilkan bernama verotoksin. Toksin ini bekerja dengan cara menghilangkan satu basa adenin dari unit 28S rRNA sehingga menghentikan sintesis protein. Sumber bakteri ini contohnya adalah daging yang belum masak, seperti daging hamburger yang belum matang. Koloni yang tumbuh berwarna ungu/merah merupakan bakteri koliform dan berwarna biru merupakan bakteri *E. coli* (Sutiknowati, 2016).



A. Koloni bakteri koliform



B. Koloni bakteri *E. coli*

Gambar 3. Cawan petri berisi media selektif untuk pembiakan bakteri koliform dan *E. coli*. Tampak beberapa koloni berwarna ungu/merah (A) dan biru (B) yang akan dihitung dengan menggunakan *cell counter*.

Selain sebagai tempat pemasaran daging, pasar merupakan tempat yang rawan dan berisiko cukup tinggi terhadap cemaran mikroba patogen. Sanitasi dan kebersihan lingkungan penjualan (pasar) perlu mendapat perhatian baik dari pedagang itu sendiri maupun petugas terkait untuk meminimalisir tingkat cemaran mikroba. Pasar dibagi menjadi dua jenis, yaitu pasar modern dan pasar tradisional. Pasar modern dipandang sebagai tempat yang sangat memperhatikan aspek

kebersihan dan menjual produk pangan yang sudah melewati standar mutu tertentu dan keamanan pangan. Daging yang dijual di pasar modern disebut daging beku dan tidak bisa dikatakan daging segar karena telah mengalami berbagai proses. Sedangkan daging yang dijual di pasar tradisional merupakan daging segar hal inilah yang menjadi daya tarik masyarakat. Namun, sangat disayangkan proses penyiapan daging di pasar tradisional kurang memperhatikan aspek sanitasi dan higienis, karena daging-daging yang dipersiapkan untuk dijual oleh pedagang tidak ditutup dan disimpan dalam suhu dingin dan akibat dari suhu penyimpanan ini akan berdampak pada perkembangbiakan bakteri secara cepat. Daging sapi merupakan bahan makanan yang mengandung nutrisi berupa air, protein, lemak, karbohidrat, dan mineral. Nutrisi dalam daging sapi tersebut dapat menjadi media yang sangat baik untuk pertumbuhan bakteri Coliform (Jose dkk, 2014).

Daging yang terkontaminasi bakteri berpotensi menimbulkan penyakit yang berbahaya apabila dikonsumsi manusia. Kontaminasi bakteri yang terjadi pada makanan dan minuman ini dapat menyebabkan perubahan makanan tersebut menjadi media bagi suatu penyakit (Nadifah dkk, 2014) atau yang lebih dikenal dengan foodborne diseases. Istilah foodborne diseases adalah suatu penyakit yang merupakan hasil dari pencernaan atau penyerapan makanan yang mengandung mikroba oleh tubuh manusia. Salah satu bakteri penyebab foodborne disease adalah bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* (*E. coli*). Bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan suatu bakteri Gram (-) berbentuk batang, bersifat anaerobik fakultatif, dan mempunyai flagella peritrikat (Kiramang dkk, 2018).

D. Metode Kerja

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pengujian *e.coli*/koliform di Laboratorium kesmavet yaitu stomacher, mikropipet, cawan petri, tabung reaksi dan rak tabung reaksi. Bahan-bahan yang digunakan yaitu Sampel daging ayam, larutan BPW (Buffered pepton water), media brilliance agar *e.coli*/koliform dan plastik steril.

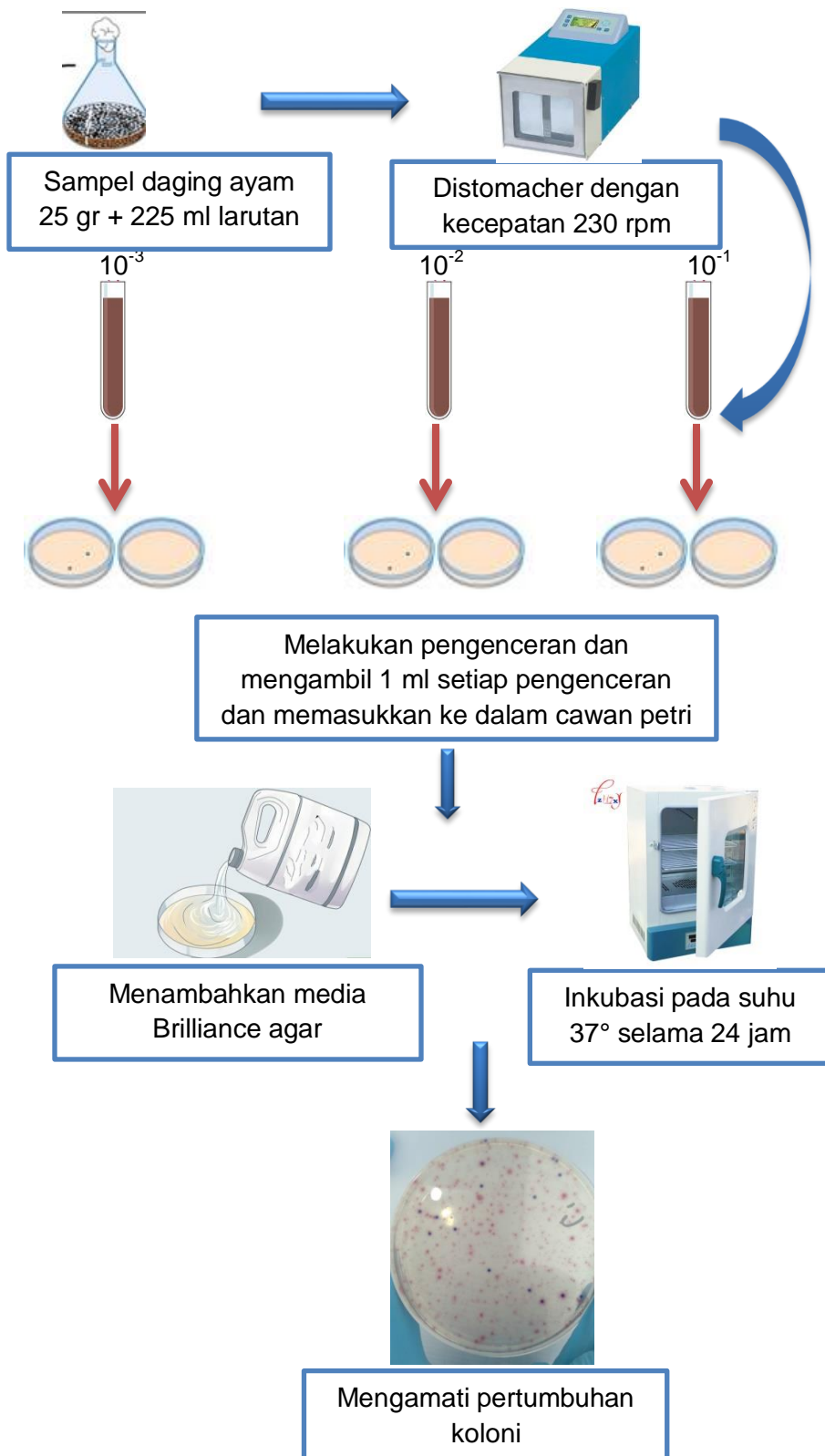
2. Prosedur kerja

- a. Menimbang sampel 25 gram atau 25 ml
- b. Menambahkan 225 ml Buffered pepton water (BPW)

- c. Distomacher dengan kecepatan 230 rpm selama beberapa menit (Pengenceran 10^{-1})
- d. Membuat deret pengenceran (10^{-2} , 10^{-3})
- e. Mengambil 1 ml dari setiap pengenceran dan memasukkan pada cawan petri steril
- f. Menambahkan media Brilliance agar E.coli/ Koliform sebanyak 18-20 ml pada setiap cawan petri
- g. Menghomogenkan dengan cara memutar cawan petri membentuk angka 8
- h. Menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- i. Mengamati dan menghitung pertumbuhan koloni sampel

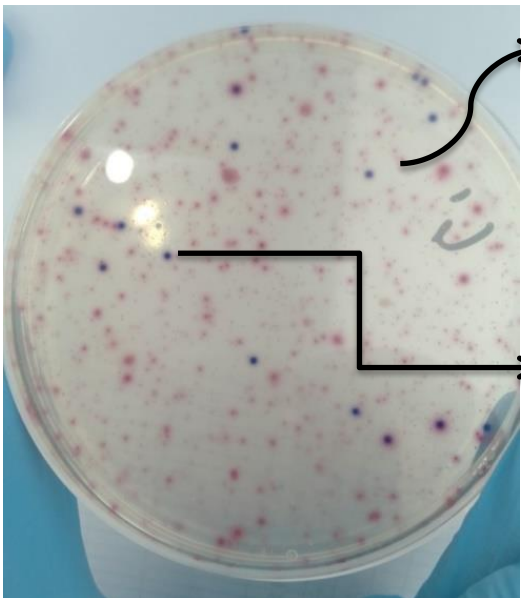
Larutan pengencer yaitu Buffered Peptone Water (BPW) sebanyak 225 mL dan dihomogenkan sehingga diperoleh suspensi dengan pengenceran 1:10 atau 10^{-1} . Larutan pengencer BPW memiliki kandungan utama berupa pepton yang merupakan protein yang berperan sebagai sumber nutrisi. Komponen utama protein adalah nitrogen (N_2) yang sangat dibutuhkan oleh bakteri untuk mensintesis protein. Selain mengandung N_2 , BPW juga mengandung natrium klorida, disodium hidrogen fosfat dan potasium hidrogen fosfat yang berfungsi sebagai mineral yang diperlukan untuk mempertahankan kelangsungan hidup bakteri. BPW juga berfungsi sebagai buffer yang digunakan untuk mempertahankan pH optimum untuk pertumbuhan bakteri yaitu pada pH antara 6,5-7,5. Proses pengenceran pada penelitian ini dilakukan dengan cara mengambil 1 mL dari hasil homogenisasi kemudian dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi 9 mL BPW maka diperoleh pengenceran 10^{-2} yang dihomogenkan dengan bantuan vortex. Pengenceran selanjutnya yaitu 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} hingga 10^{-6} dibuat dengan cara yang sama seperti proses pengenceran sebelumnya. Tujuan dilakukannya pengenceran yaitu agar mendapatkan koloni yang terpisah dengan jumlah 25 sampai dengan 250 koloni atau sekurang-kurangnya dalam satu cawan memenuhi range tersebut sehingga mempermudah perhitungan koloni. Apabila tidak dilakukan pengenceran maka koloni bakteri yang tumbuh akan sangat pekat dan saling bertumpuk sehingga akan mempersulit proses pengamatan dan perhitungan jumlah koloni (Bridson, 2006).

Skema Pengujian E.coli/Koliform pada sampel daging ayam



E. Hasil dan Pembahasan

1. Hasil Pengamatan

Gambar	Keterangan
 <p data-bbox="244 875 714 966">Gambar 1. Cawan petri berisi media selektif yang terkontaminasi oleh bakteri e.coli/Koliform</p>	<p data-bbox="765 316 1201 378">Bakteri Koliform berwarna merah muda</p> <p data-bbox="765 620 1126 681">Bakter E.coli berwarna biru/keunguan</p>

2. Pembahasan

Pengujian E.coli/ koliform pada sampel makanan ini digunakan agar dapat mengetahui apakah makanan tersebut layak dikonsumsi oleh tubuh sehari-hari. Mikroba yang terkandung dalam makanan bisa menyebabkan kerusakan mikrobiologis pada makanan sehingga tidak layak untuk dikonsumsi. Pemeriksaan makanan ini menggunakan metode Klorimetrik atau menghitung koloni biru keunguan, dimana dalam pengujian ini menggunakan sampel daging ayam. Pengujian E.coli/ koliform ini menggunakan media selektif, dimana media selektif ini merupakan media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri tertentu.

Media selektif yang digunakan yaitu media Brilliance E.coli/ coliform selective agar, media brilliance E.coli/coliform selective agar Deteksi aktivitas β -glukururidase banyak digunakan untuk membedakan bakteri Escherichia coli, sebagai enzim, yang dikodekan oleh gen uidA, terdapat dalam Escherichia coli, tetapi tidak pada anggota lain dari kelompok coliform. Karena coliform adalah

laktosa-positif, aktivitas β -galaktosidase, yang dikodekan oleh gen lacZ, kemudian digunakan untuk membedakan kelompok ini dari organisme lain yang dapat tumbuh pada media selektif. Media ini juga mengandung natrium lauril sulfat yang bertindak sebagai agen selektif, menghambat pertumbuhan organisme Gram-positif. Berdasarkan hasil pengujian didapatkan bahwa pada sampel daging positif terdapat bakteri E.coli/ coliform, dapat dilihat dari cawan petri yang positif mengandung bakteri e.coli berwarna biru/ keunguan sedangkan untuk yang positif mengandung bakteri koliform berwarna merah muda/ pink.

Keberadaan *Escherichia coli* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu cara pengangkutan dan alat angkut yang digunakan di Pasar ini masih menggunakan gerobak sorong, tempat berjualan daging ayam masih diletakkan diatas meja dengan alas yang tidak memadai sehingga mengakibatkan jumlah total bakteri yang tinggi pada daging ayam. Hal ini sesuai dengan pendapat Soeparno (2009), yang menyatakan bahwa kontaminasi mikroba pada daging dimulai sejak berhentinya peredaran darah pada saat penyembelihan, terutama apabila alat-alat yang dipergunakan untuk pengeluaran darah tidak steril.

F. Kesimpulan

Hasil pengujian menunjukkan adanya bakteri bakteri e.coli/ koliform, dimana bakteri e.coli menunjukkan warna biru/ keunguan sedangkan untuk bakteri koliform menunjukkan warna merah muda.

G. Daftar Pustaka

- Bridson, E., Y. 2006. Oxoid manual, 9th Edition, Oxoid Limited, England.
- Jose C., Jasmadi., Haryani Y. 2014. Prevalensi bakteri coliform dan *Escherichia coli* Pada daging sapi Yang dijual Di pasar tradisional dan pasar modern di Kota Pekanbaru. *JOM FMIPA*. 1 (2).
- Santosa, P.E., Utari, L.K., Riyanti. 2016. Status Mikrobiologis Daging Broiler di Pasar Tradisional Kabupaten Pringsewu. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 4 (1).
- Sutiknowati., 2016. Bioindikator pencemar bakteri *Escherichia coli*. *Oseana*. XLI (4).
- Kiramang K., Rafika N., Irmawaty. 2018. Tingkat Cemarkan Bakteri *Escherichia coli* Pada Daging Ayam yang dijual di pasar Tradisional Makassar. ISBN: 978-602-72245-3-7.

Pengujian Antraks (*Bacillus anthracis*) pada Sampel Tanah Peternakan

4

Nurjannah J.

A. Latar Belakang

Sejumlah penyakit infeksi pada manusia dapat disebabkan oleh agen yang dipindahkan dari spesies hewan ke manusia, baik secara langsung maupun tidak langsung. Hal ini menyebabkan adanya kaitan antara kesehatan manusia dengan kesehatan hewan dan lingkungan. Menurut Suardana (2015), terdapat lebih dari 200 penyakit yang terjadi pada manusia dan hewan yang diketahui dapat saling berpindah, baik penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri (termasuk riketsia dan klamidia), jamur, protozoa, maupun cacing dan arthropoda.

Penyakit zoonosis didefinisikan sebagai penyakit menular yang ditularkan secara alamiah dari hewan domestik atau hewan liar ke manusia. Zoonosis pada awalnya merupakan istilah yang menjadi sebutan untuk penyakit hewan (Bahasa Yunani: *zoon* berarti “hewan”). Seorang ahli R. Virchow (1855) menyebutkan bahwa zoonosis adalah infeksi yang disebabkan oleh hewan beracun. Tahun 1863, ahli lainnya W. Probstmayer memperkenalkan istilah zoonosis dengan makna ganda yaitu: zoonosis adalah penyakit hewan; dan zoonosis sebagai penyakit pada manusia yang ditularkan dari hewan baik melalui vektor ataupun dengan kontak langsung.

Permasalahan penyakit yang dipindahkan antara hewan dan manusia memiliki banyak aspek. Para ahli di bidang kedokteran umum dan kedokteran hewan harus melakukan kerja sama erat dan terpadu untuk mempelajari etiologi, epidemiologi, dan siklus perkembangan model perpindahan patogen serta vektor penyakit. Termasuk juga gejala klinis yang ditunjukkan, diagnosis, diagnosis banding, terapi, dan profilaksis dari penyakit-penyakit zoonosis yang ada.

B. Tujuan

Isolasi dan Identifikasi *Bacillus anthracis* menggunakan metode kultur bakteri pada sampel tanah peternakan.

C. Tinjauan Pustaka

1. Antraks dan Bakteri Penyebab Antraks

Antraks merupakan penyakit infeksi akut yang disebabkan oleh bakteri *Bacillus anthracis*. Penyakit ini kebanyakan menyerang mamalia dan beberapa spesies burung, terutama herbivora. Hewan ternak yang sering terkontaminasi penyakit ini yaitu sapi, kerbau, kambing, domba dan babi. Antraks disebut juga Radang Lympha, *Malignant Pustule*, *Malignant edema*, *Woolsorter disease*, *Rag pickers disease*, dan *Charbon*. Bakteri penyebab antraks dapat menginfeksi dari hewan ke manusia melalui kontak dengan lesi, ingesti/memakan daging hewan yang terkontaminasi, serta inhalasi dari spora *B. anthracis* (Clarasinta dan Tri, 2017).



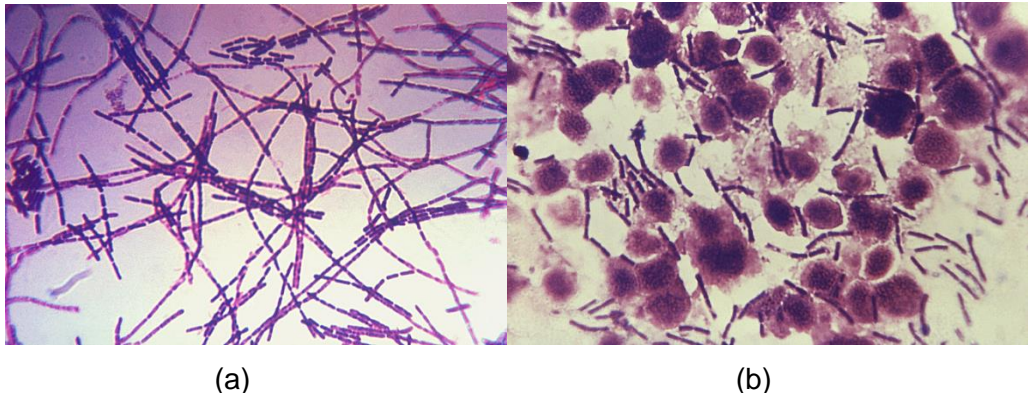
Gambar 4.1. *Bacillus anthracis* (Transmission Electron Microscopic / TEM), A menunjukkan pembelahan sel dan B menunjukkan endospora

Sumber: CDC/Public Health Image Library

Bakteri *B. anthracis* berbentuk batang, berukuran 1-1,5 mikron kali 3-8 mikron, non-motil, dan bersifat aerobik Gram positif. Spesimen yang diambil dari hewan sakit, ditemukan bakteri ini berbentuk rantai pendek yang dikelilingi oleh kapsul yang terlihat jelas dan ditemukan dalam bentuk vegetatif pada manusia dan hewan. Sporangya akan memiliki ketahanan yang tinggi terhadap agen fisik dan kimia jika terpapar oksigen, oleh karena itu hewan yang mati dengan dugaan antraks tidak boleh dilakukan autopsi. Hal ini dilakukan untuk meminimalisir *B. anthracis* menghasilkan spora (Suardana, 2015).

Spora antraks dapat bertahan hingga 60 tahun di dalam tanah yang kering. Spora juga dapat bertahan lama pada debu, kapas, bulu, kulit, serbuk tulang, pakaian, dan sebagainya. Penyakit antraks sering dikenal sebagai *soil born disease* karena penyakit ini pada suatu saat seakan muncul dari tanah akibat

daya tahan spora antraks yang lama di lingkungan luar. Pada kondisi tanah yang bersifat netral, basa (*alkali*), atau berkapur, spora antraks dapat hidup subur. Kondisi seperti itu merupakan tempat pengeraman bagi spora antraks yang kemudian dapat tumbuh menjadi bentuk vegetatif dan memperbanyak diri sampai ke tingkat yang mampu untuk menginfeksi calon korban lainnya (Suardana, 2015).



Gambar 4.2. Pewarnaan Gram *Bacillus anthracis*: (a) Berasal dari hasil kultur bakteri; (b) Berasal dari jaringan yang terinfeksi

Sumber: CDC/Public Health Image Library

2. Penyakit Antraks pada Hewan Ternak

Ternak yang mati akibat penyakit antraks sekitar 80% bakteri antraks ditemukan di dalam darahnya dan 20%-nya ada di dalam limpa. Kematian ternak diakibatkan oleh produksi *lethal toxin* (LT) dan *edema toxin* (ET) yang dikeluarkan oleh *B. anthracis*. *Lethal toxin* mengubah fungsi vaskular perifer dan memiliki efek depresan miokard langsung, adapun *Edema toxin* selain memiliki efek vaskular perifer juga mampu mengganggu retensi natrium dan air di ginjal (Martindah, 2017).

Tanda klinis penyakit antraks dalam Pedoman Pengendalian dan Pemberantasan Penyakit Hewan Menular (PHM) Kementerian Pertanian Republik Indonesia, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan (2016), dikenal ada 4 bentuk yaitu per akut, akut dan kronis serta kutan.

a. Bentuk per akut (sangat mendadak)

Antraks per akut gejalanya yaitu hewan mendadak mati karena perdarahan otak. Bentuk per akut sering terjadi pada domba dan kambing dengan perubahan apopleksi serebral, hewan berputar-putar, gigi

gemeretak dan mati hanya beberapa menit setelah darah keluar dari lubang telinga, hidung, anus, kelamin (kumlah). Beberapa kasus dapat berlangsung beberapa jam.

b. Bentuk akut

Tanda penyakit bermula dengan demam (pada kuda mencapai 41,5°C dan pada sapi 42°C), gelisah, depresi, sesak nafas, detak jantung cepat tetapi lemah, hewan kejang kemudian mati. Tanda umum pada sapi adalah pembengkakan sangat cepat di daerah leher, dada, sisi perut, pinggang dan kelamin luar. Keluar cairan darah encer merah kehitaman dari lubang kumlah (telinga, hidung, anus, kelamin). Kematian terjadi 1 hingga 3 hari setelah tampak gejala klinis.

c. Bentuk kronis

Terdapat lesi/luka lokal yang terbatas pada lidah dan tenggorokan, lebih sering menyerang ternak babi dan jarang pada sapi, kuda dan anjing. Penyakit berakhir setelah 10-36 jam atau kadang-kadang dapat mencapai 2-5 hari, akan tetapi pada sapi dapat berlangsung 2-3 bulan. Ternak babi dapat mati karena antraks akut tanpa gejala tanda, atau mati tercekik akibat pembengkakan tenggorokan, atau berangsur dapat sembuh pada antraks kronis yang ringan.

d. Bentuk kutan

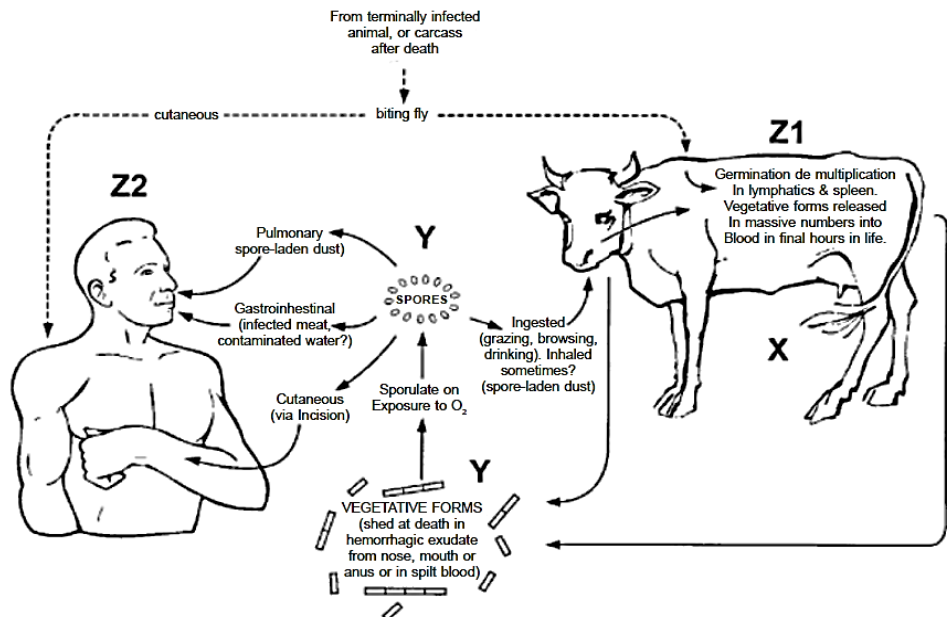
Terjadi pembengkakan di macam-macam tempat di bagian tubuh. Biasanya menyerang pada sapi dan kuda. Apabila luka atau lecet kulit akan dicemari oleh kuman antraks.

3. Penyakit Antraks pada Manusia

Penyakit antraks pada manusia seringkali didahului adanya kasus antraks pada ternak. Ada tiga jenis antraks pada manusia sesuai dengan cara penularannya menurut WHO dalam Martindah (2017), masing-masing dengan gejala klinis yang berbeda:

- a. Antraks *Cutaneous* atau antraks kulit, muncul gejala seperti bisul kecil yang kemudian melebar menjadi luka dan menghitam;
- b. Antraks gastrointestinal (antraks saluran pencernaan), didahului dengan mual-mual, demam, muntah, pusing dan diare kehitaman karena ada perdarahan internal; dan

- c. Antraks inhalasi (antraks pernafasan/antraks pulmonum), gejala umum yang seringkali terjadi yaitu perut membesar, badan menggigil disertai pendarahan dari lubang hidung, mulut, pori-pori kulit, telinga dan anus. Gejala yang muncul berupa sesak nafas, demam tinggi, nyeri otot, syok, tenggorokan sakit/perih dan sukar menelan, batuk berdarah, serta meningitis (radang selaput otak).



Gambar 4.3. Penularan penyakit antraks pada ternak dan manusia

Sumber: Suardana (2015)

4. Pengujian Penyakit Antraks

Pemeriksaan atau pengujian spesimen di laboratorium adalah untuk meneguhkan diagnosa yang dibuat berdasarkan gejala klinis yang terlihat. Pada dasarnya pengujian yang dilakukan merupakan deteksi agen penyakit dan deteksi antibodi. Metode isolasi dan identifikasi dilakukan untuk menentukan agen penyebab telah direkomendasikan WHO (1998) dan *Central for Disease Control and Prevention* (2002) dan dalam Adji dan Lily (2006). Metode ini dilakukan dengan berbagai teknik tergantung jenis spesimen, yaitu:

- Spesimen yang masih baru baik berupa hewan atau manusia tanpa pengawet;
- Spesimen yang masih baru baik berupa hewan atau manusia dengan pengawet; dan

- c. Spesimen yang sudah lama, karkas yang sudah membusuk, material yang sudah diproses dan atau lingkungan (termasuk tanah).

Terdapat beberapa prosedur pengujian untuk diagnosis antraks di laboratorium sebagaimana tertera pada tabel 5.1.

Tabel 4.1. Prosedur pengujian untuk diagnosis antraks di laboratorium

Prosedur pemeriksaan	Keterangan
Isolasi dan identifikasi	
Mikroskopik	
<i>Polychron methylene blue</i>	<i>B. anthracis</i> mempunyai bentuk batang berantai warna biru dengan ujung siku-siku dengan kapsul berwarna merah muda
Visualisasi kapsul	<i>B. anthracis</i> mempunyai bentuk koloni kasar, liat, warna abu-abu, non hemolisis, non motil dan membentuk spora
Kultur	
Morfologi koloni	
Hemolisis	
Motilitas	Koloni <i>B. anthracis</i> akan lisis jika ditetesi gamma-phage
Sporulasi	
Lisis <i>gamma-phage</i>	Pada umumnya <i>B. anthracis</i> sensitif terhadap penisilin
Sensitifitas terhadap penisilin	
Deteksi antibodi	Uji ELISA untuk deteksi antibodi anti-PA yang ada dalam sampel serum. Jarang digunakan untuk diagnosis
Uji Serogi: ELISA antibodi	
Deteksi antigen	Untuk deteksi antigen <i>B. anthracis</i>
Uji ascoli	Pada uji ascoli terbentuk cincin putih diantara serum dan ekstrak sampel
	Uji DFA untuk deteksi dinding sel dan kapsul (berwarna hijau jika dilihat di bawah mikroskop <i>flouescence</i>)
<i>Direct Flouescence Assay (DFA)</i>	Pada uji <i>immunochromatoghrafic assay</i> akan ada dua garis coklat pada kertas netroselulosa
<i>Immunochromatoghrafic assay</i>	Untuk konfirmasi virulensi, adanya dua pita yaitu PA (pXO1) dan kapsul (pXO2)
<i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	Suntikan intradermal 0,1 ml <i>Anthraxin</i> , diamati 48 jam pasca suntikan, adanya pembengkakan dan kemerahan pada kulit menunjukkan positif
<i>Hipersensitivity test (Anthraxin)</i>	

Sumber: OEI (2000) dalam Adji dan Lily (2006)

Hal yang biasa dilakukan untuk sampel yang masih baru adalah dengan melihat adanya kapsul maupun bentuk kuman dengan pewarnaan *polychrome methylene blue* (M fahdeyan's reaction). Bentuk bakteri yaitu berbentuk batang berantai dengan ujung siku berwarna biru dengan kapsul berwarna merah muda. *B. anthracis* yang virulen dapat diinduksi untuk memproduksi kapsul (uji enkapsulasi) dengan menumbuhkannya pada media agar bikarbonat 0,7%, dengan kandungan CO₂ 5 - 20% dan media agar darah setelah diinkubasi 37°C selama 16 - 24 jam. Karakteristik morfologis yang berbeda yang ditunjukkan oleh mikroorganisme yang sama, ketika tumbuh pada media pertumbuhan yang berbeda. Dalam hal ini, ini terbukti menghasilkan tes enkapsulasi positif, dengan koloni yang diproduksi pada media bikarbonat menunjukkan penampilan yang halus, sedangkan yang diolah pada media agar darah menunjukkan penampilan kasar. Koloni *B. anthracis* khususnya pada media agar darah berwarna putih keabu-abuan, tepi tidak rata dan beraturan (*medusa head*), kasar, suram, non hemolitik, non motil dan konsistensi liat. Koloni *B. anthracis* seperti kapas, dengan media tampak bening pada media broth (Adji dan Lily, 2006).

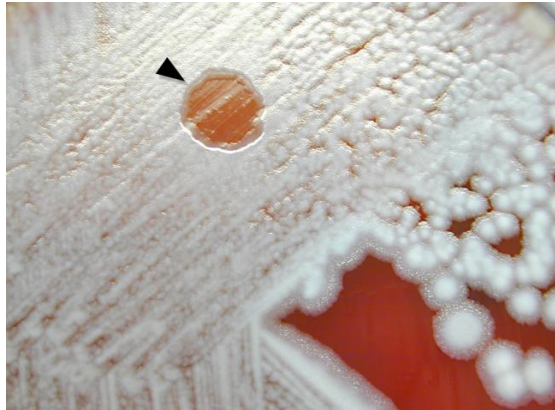


Gambar 4.6. Media pertumbuhan agar bikarbonat (kiri) dan agar darah (kanan) yang sudah ditumbuhi koloni *Bacillus anthracis*

Sumber: CDC/Public Health Image Library

Uji lisis *gamma phage* maupun kepekaan terhadap penicillin dapat dijadikan sebagai uji konfirmasi dalam identifikasi. Sampel yang sudah lama, sudah busuk, yang sudah diproses atau sampel tanah, sampel terlebih dahulu harus dipanaskan pada 65°C selama 15 menit. Sampel kemudian ditanam pada media agar darah atau agar yang mengandung *polymyxin*, *lysoryme*,

EDTA, *thallous acetat* (PLET), dan diinkubasikan pada suhu 35-37°C selama 16 - 48 jam pada kondisi bebas karbon (Adji dan Lily, 2006). Hasil positif uji ini berupa terbentuknya makroplak berbentuk oval yang merupakan zona dimana pertumbuhan koloni bakteri antraks ini mengalami penurunan. Zona ini merupakan zona dimana suspensi gamma fage telah diaplikasikan di atas media agar darah (CDC / *Public Health Image Library*).



Gambar 4.7. Hasil Uji lisis *gamma phage*, tanda panah menunjukkan pertumbuhan bakteri berkurang setelah diberi perlakuan suspensi gamma fage

Sumber: CDC/Public Health Image Library

Uji Ascoli digunakan untuk mendeteksi adanya antigen yang terdapat dalam sampel terduga antraks. Prinsip teknik ini reaksi antara antibodi (serum Ascoli) dengan antigen, di mana hasil positif akan terbentuk cincin warna putih di antara serum dan ekstrak sampel. Uji ini hanya baik digunakan untuk sampel dari hewan yang terduga antraks dan tidak baik digunakan untuk sampel lingkungan, sebab terjadi reaksi silang dengan *Bacillus* lain (Adji dan Lily, 2006).

Teknik *Direct Fluorescence Assay* (DFA) juga dilaporkan mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Uji ini dapat mendeteksi *B. anthracis* dalam waktu beberapa jam saja dan dapat membedakan *B. anthracis* dari *Bacillus* spp. lainnya. Uji ini mendeteksi kapsul dan dinding dari *B. anthracis*. Uji ini menggunakan antibodi yang dilabel dengan *Fluorescence Isothiocyanate* (FITC). Teknik DFA yang mampu mendeteksi 2 komponen *B. anthracis* ini dilaporkan sensitif, spesifik dan merupakan uji konfirmatif yang cepat dan

sangat berguna untuk mendeteksi *B. anthracis* secara langsung dari spesimen lapangan (Adji dan Lily, 2006).

Deteksi antigen yang lebih sensitif dan spesifik adalah dengan teknik *immuno chromatographic assay*. Teknik ini menggunakan antibodi monoklonal anti-PA (anti-*Protective Antigen*) yang dilekatkan pada membran nitroselulosa dan dapat mendeteksi adanya PA dalam sampel dengan jumlah yang sangat kecil yaitu 25 ng/ml. Adapun *Enzyme linked immuno-sorbent assay* (ELISA) digunakan untuk mendeteksi adanya antibodi yang ada dalam sampel serum dan banyak digunakan untuk evaluasi vaksinasi, studi epidemiologi pada manusia, hewan ternak maupun hewan liar. Jika uji ini digunakan untuk diagnosa harus juga dilakukan pemeriksaan laboratorium yang lain (Adji dan Lily, 2006).

Anthraxin merupakan antigen antraks yang diinaktivasi dan dimurnikan dan banyak digunakan dalam mengevaluasi vaksinasi dan studi retrospektif pada hewan dan manusia. Teknik ini diaplikasikan dengan cara menyuntikkan 0,1 ml Anthraxin secara intradermal dan diamati dalam waktu 48 jam. Munculnya pembengkakan dan kemerahan kulit menunjukkan reaksi positif. Teknik PCR mulai digunakan secara luas untuk mendeteksi adanya gen faktor virulensi (kapsul dan toksin PA). Jadi dalam hal ini dapat dipastikan suatu isolat adalah virulen atau tidak. Metode ini relatif cepat dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi (Adji dan Lily, 2006).

D. Metode

1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi *Bacillus anthracis* berupa peralatan kaca (*glass*) dan non-kaca serta peralatan elektrik. Peralatan berbahan kaca seperti erlenmeyer, tabung venojet (tabung vacutainer tutup merah), cawan petri, pipet pasteur, dan batang pengaduk. Peralatan non-kaca yang digunakan berupa ose bulat, tabung centrifuge berskala 50 ml, rak tabung centrifuge, spatula, bulb, dan syringe steril 3 ml. Adapun peralatan elektrik yang digunakan yaitu *Biological Safety Cabinet* (BSC), centrifuge, vortex, waterbath, autoclave, shaker, lemari pengering, dan inkubator.

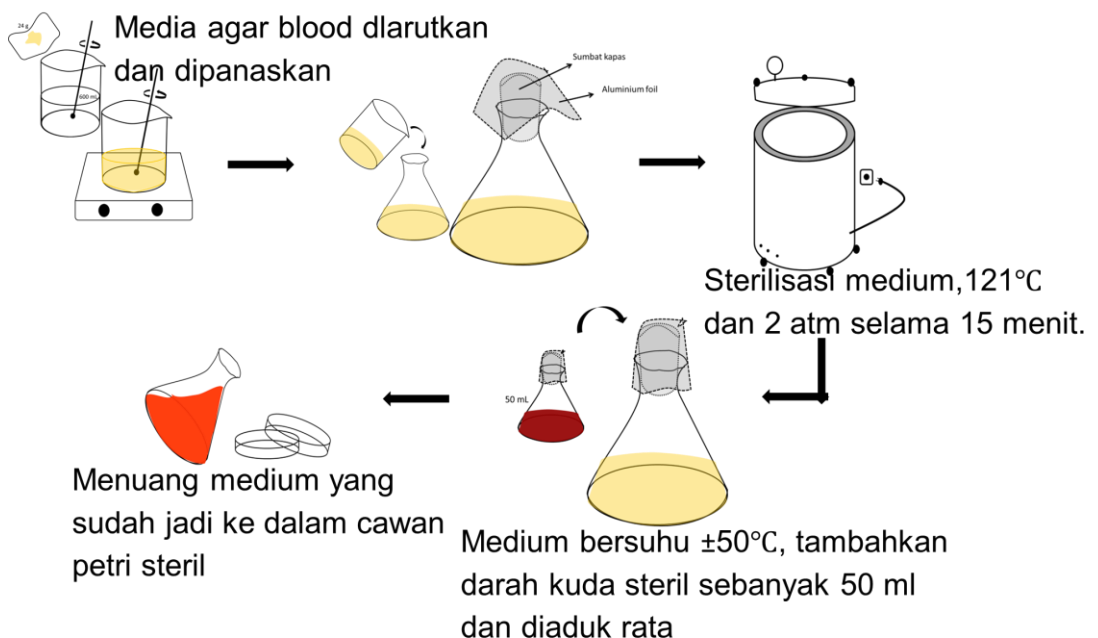
Bahan yang digunakan dalam pengujian ini adalah serbuk media *Blood Agar* dan darah kuda/domba steril sebagai bahan baku pembuatan media

pertumbuhan kultur bakteri pada pengujian ini. Sampel yang akan diuji antraks kali ini berupa tanah peternakan. Adapun beberapa bahan pendukung yang digunakan yaitu aquabidest, alkohol 70%, saline, aluminium foil dan kantong plastik putih.

2. Prosedur Kerja

a. Pembuatan medium *Blood Agar*

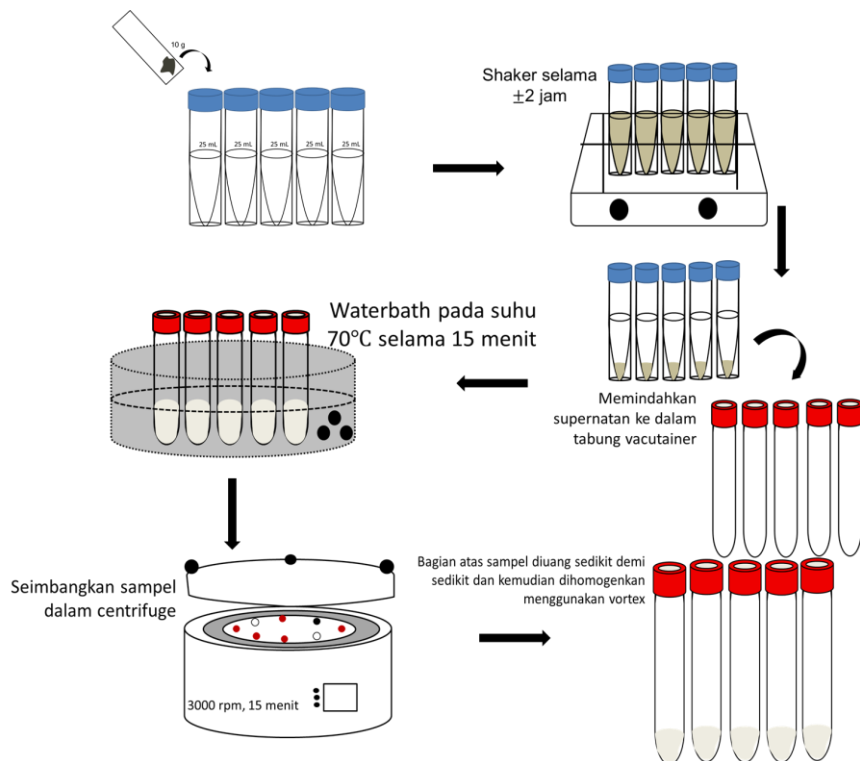
- 1) Melarutkan media *blood agar* sebanyak 24 gram dalam 600 ml aquabidest.
- 2) Melakukan sterilisasi medium menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.
- 3) Medium didinginkan hingga suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ kemudian ditambahkan darah kuda steril sebanyak 50 ml dan diaduk rata.
- 4) Menuang medium yang sudah jadi ke dalam cawan petri steril.
- 5) Menginkubasi media yang sudah dituang ke dalam cawan petri pada suhu 37°C selama 24 jam sebelum dipergunakan.
- 6) Media dapat disimpan dalam kondisi suhu 4°C sampai akan dipergunakan jika sudah terbukti tidak ada mikroba pencemar setelah diinkubasi tadi.



Gambar 4.8. Skema pembuatan media *blood agar plate*

b. Preparasi sampel

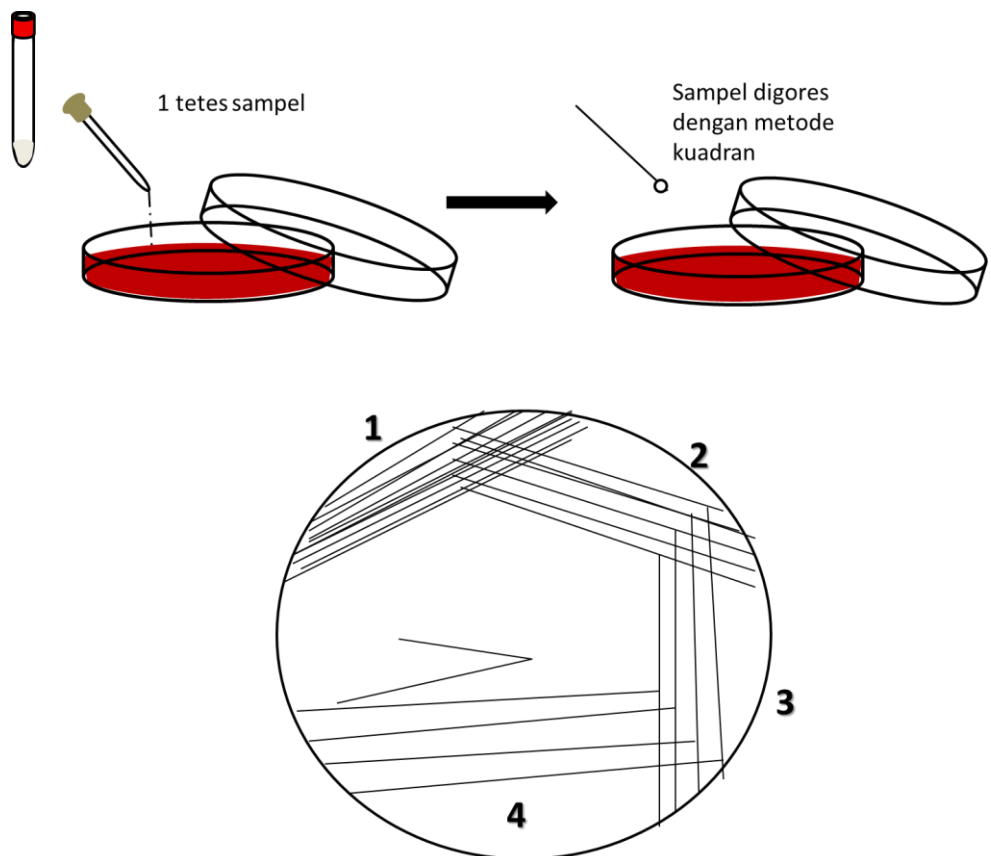
- 1) Mengisi tabung centrifuge dengan saline sebanyak 25 ml pada masing-masing tabung, beri label sesuai nama dan jumlah sampel.
- 2) Menyiapkan BSC.
- 3) Memasukkan sampel tanah ± 10 gram ke dalam tabung centrifuge sesuai label pada tabung (10 gram sampel dilihat dari penambahan volume saline dalam tabung dari 25 ml menjadi 35 ml).
- 4) Menyusun tabung berisi sampel tersebut pada rak dan dibungkus plastik serta aluminium foil, kemudian di shaker selama ± 2 jam.
- 5) Memindahkan supernatan ke dalam tabung vacutainer menggunakan syringe steril dengan jarum syringe tetap tertancap pada tabung vacutainer.
- 6) Memanaskan vacutainer berisi supernatan tadi pada suhu 70°C menggunakan waterbath selama 15 menit.
- 7) Melakukan centrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
- 8) Membuang sedikit demi sedikit bagian atas sampel yang telah disentrifus dan menyisakan endapannya yang kemudian di vortex beberapa saat.



Gambar 4.9. Skema preparasi sampel (tanah)

c. Isolasi sampel

- 1) Mengeringkan medium di lemari pengering selama 15 menit sebelum digunakan untuk menghilangkan sisa uap air dalam medium.
- 2) Menyiapkan BSC beserta alat dan bahan yang dibutuhkan dalam BSC.
- 3) Melabeli setiap cawan petri medium BA sesuai jumlah sampel yang akan diisolasi (dalam satu cawan petri berisi medium dapat dibagi menjadi dua untuk mengisolasi dua sampel, yaitu dengan cara membuat garis pemisah dari sampel satu dengan sampel kedua agar tidak bercampur).
- 4) Mengambil 1-2 tetes sampel ke dalam cawan petri sesuai label sampel.
- 5) Melakukan penggoresan dengan metode kuadran menggunakan ose steril. Menutup cawan petri dan dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C, hasil dapat dilihat setelah 24 jam.

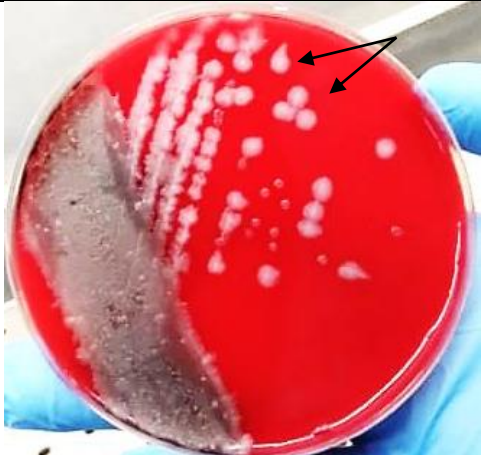


Gambar 4.10. Skema isolasi sampel metode kuadran

E. Hasil dan Pembahasan

1. Hasil

Tabel 4.2. Hasil Isolasi dan Identifikasi *Bacillus anthracis* dari sampel tanah peternakan menggunakan metode kultur bakteri

Hasil	Keterangan
	→ = Koloni bakteri <i>Bacillus anthracis</i> pada media <i>blood agar plate</i> setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

2. Pembahasan

Isolasi dan Identifikasi *Bacillus anthracis* pada sampel tanah peternakan menunjukkan hasil positif pada beberapa sampel yang dikultur pada medium pertumbuhan media *Blood Agar* (BA). Hasil positif ditunjukkan oleh adanya koloni bakteri berwarna putih keabuan di atas permukaan media pertumbuhan yang digunakan. Hal ini seperti ciri koloni *B. anthracis* khususnya pada media BA dalam Adji dan Lily (2006) yaitu berwarna putih keabu-abuan, tepi tidak rata dan beraturan (*medusa head*), kasar, dan suram.

Media BA bukan merupakan media selektif murni. Suatu media dikatakan media selektif apabila hanya ditumbuhi beberapa jenis mikroba sementara menghambat pertumbuhan mikroba jenis lain. Media BA adalah media yang diperkaya dengan nutrisi tambahan berupa darah yang biasanya diambil dari darah domba atau kuda yang sehat.

Media Agar Darah Cawan ada beberapa jenis seperti dalam Roviati (2016), yaitu Agar Cokelat (CHOC), Agar Thayer-Martin (TM) dan *Blood Agar Plate* (BAP). Agar Cokelat merupakan tipe cawan agar darah dimana sel-sel darah sudah dilisiskan dengan pemanasan pada suhu 56°C. Agar cokelat digunakan untuk menumbuhkan bakteri yang “rewel” dari saluran pernapasan, seperti *Haemophilus influenzae*. Penamaan agar cokelat karena warnanya yang cokelat

bukan karena penambahan cokelat. Agar Thayer-Martin (TM): Agar cokelat yang didesain untuk mengisolasi *Neisseria gonorrhoeae*. Adapun jenis media agar darah yang digunakan pada pengujian antraks yaitu media *Blood Agar Plate* (BAP).

Blood Agar Plate (BAP) mengandung darah mamalia (biasanya domba atau kuda), umumnya pada konsentrasi 5-10%. BAP merupakan media diferensial dan diperkaya untuk mengisolasi mikroba yang sulit ditumbuhkan pada media umum dan mendeteksi aktivitas hemolitik. Aktivitas hemolitik- β (hemolitik-beta) akan memperlihatkan sel-sel darah merah yang benar-benar lisis di sekeliling koloni, contohnya pada *Streptococcus haemolyticus*. Hemolisis- α (hemolitik-alfa) hanya akan melisis sebagian hemoglobin dan akan terlihat hijau, contohnya pada *Streptococcus viridans*. Hemolisis- γ (hemolitik-gamma) adalah istilah untuk koloni mikroba yang tidak memiliki aktivitas hemolitik (Roviati, 2016). Adapun *Bacillus anthracis* yang menunjukkan hasil positif pada pengujian kali ini pada beberapa sampel tanah peternakan menunjukkan tipe hemolisis- γ atau non-hemolitik. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan media setelah tumbuhnya koloni bakteri. Tipe hemolisis *B. anthracis* ini sesuai dengan deskripsi bakteri penyebab antraks ini dalam Adji dan Lily (2006) bahwa koloni *B. anthracis* bersifat non hemolitik.

Bakteri antraks merupakan bakteri yang termasuk kelompok *Bacillus* yang umumnya merupakan bakteri tanah. Namun, keberadaan *B. anthracis* ini di tanah peternakan tentu saja bisa merugikan para peternak karena dapat menginfeksi hewan ternak yang berkontak langsung dengan spora bakteri. Spora bakteri ini berpindah dari tanah ke hewan biasanya karena tertelan atau pernapasan saat proses merumput. Spora bakteri ini juga akan semakin menyebar jika penanganan karkas ternak terinfeksi yang di lokasi peternakan dilakukan tidak sesuai prosedur standar.

Spora antraks pada tanah sangat sulit untuk dibasmi. Hal ini juga dikemukakan dalam Suardana (2015), bahwa spora antraks dapat bertahan hingga 60 tahun di dalam tanah yang kering. Spora juga dapat bertahan lama pada debu, kapas, bulu, kulit, serbuk tulang, pakaian, dan sebagainya. Penyakit ini pada suatu saat seakan muncul dari tanah akibat daya tahan spora antraks yang lama di lingkungan luar. Pada kondisi tanah yang bersifat netral, basa

(alkali), atau berkapur, spora antraks dapat hidup subur. Kondisi seperti itu merupakan tempat pengeraman bagi spora antraks yang kemudian dapat tumbuh menjadi bentuk vegetatif dan memperbanyak diri sampai ke tingkat yang mampu untuk menginfeksi calon korban lainnya.

Pengujian antraks pada sampel tanah dan sampel pakan ternak memiliki proses yang sama. Adapun preparasi sampel daging, kulit, dan telinga hewan yang mati terduga antraks terdapat tahapan yang sedikit berbeda. Sampel daging kulit, dan telinga hewan mati, tahapan awal dari preparasi sampel dilakukan dengan cara dihancurkan terlebih dahulu menggunakan alat penghancur (*stomacher*), tentunya setelah bahan pemeriksaan tersebut dicuci dan dipotong-potong kecil menggunakan pisau skalpel steril. Tahapan selanjutnya semuanya sama seperti pada sampel tanah dan pakan, seperti dalam Barkah dan Poerwadikarta (1999), yaitu sampel kemudian diencerkan kedalam larutan NaCl fisiologis (saline) untuk mempertahankan tekanan osmotik sel bakteri agar bakteri yang diduga ada dalam sampel tidak mati.

Proses preparasi sampel pengujian antraks ini terdapat tahapan pemanasan sampel pada suhu 70°C menggunakan waterbath. Tujuan pemanasan ini dilakukan agar bakteri pencemar lainnya dapat terbunuh dan tidak menghambat pertumbuhan *B. anthracis*. Selanjutnya, setelah diendapkan bagian supernatan larutan bahan pemeriksaan tersebut ditanam pada media agar darah dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 - 72 jam (Barkah dan Poerwadikarta 1999).

F. Kesimpulan

Teknik Isolasi dan Identifikasi *Bacillus anthracis* menggunakan metode kultur bakteri pada sampel tanah peternakan meliputi tiga tahapan besar yaitu proses preparasi media pertumbuhan, preparasi sampel, dan proses kultur sampel pada media. Adapun media yang digunakan untuk pertumbuhan kultur bakteri *B. anthracis* pada pengujian ini adalah media *blood agar plate*. Media ini merupakan media yang diperkaya yaitu media yang diberi tambahan zat-zat tertentu, dalam hal ini adalah darah domba ataupun darah kuda segar.

G. Referensi

Adji, R.,S., dan Lily, N. 2006. Pengendalian Penyakit Antraks: Diagnosis, Vaksinasi dan Investigasi. *Jurnal Wartazoa Vol. 16 (4): 198 – 205.*

- Barkah, K., dan Poerwadikarta M.,B. 1999. Teknik Isolasi Kuman Antraks pada Bahan Pemeriksaan dari Daerah. *Lokakarya Fungsional Non Peneliti*. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- CDC (*Central for Disease Control and Prevention*) / *Public Health Image Library* (PHIL). Diakses pada tanggal 12 Desember 2019. <https://phil.cdc.gov/QuickSearch.aspx?key=true>.
- Clarasinta, C., dan Tri U.,S. 2017. Penyakit Antraks: Ancaman untuk Petani dan Peternak. *Jurnal Majority* Vol. 7 (1): 158 – 163.
- Martindah, E. 2017. Faktor Risiko, Sikap dan Pengetahuan Masyarakat Peternak dalam Pengendalian Penyakit Antraks. *Jurnal Wartazoa* Vol. (3): 135 – 144.
- Pedoman Pengendalian dan Pemberantasan Penyakit Hewan Menular (PHM) Seri Penyakit Anthrax. 2016. Kementerian Pertanian Republik Indonesia Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan.
- Roviati, Evi. 2016. *Media Tumbuh Cawan Agar*. IAIN Syekh Nurjati Cirebon, Jawa Barat.
- Suardana, I.,W. 2015. *Buku Ajar Zoonosis: Penyakit Menular dari Hewan ke Manusia*. Penerbit PT. Kanisius, Yogyakarta

Pengujian Brucellosis pada Serum Darah Sapi dengan Metode *Rose Bengal Test* (RBT)

5

Nofridha Islami dan Nurjannah J.

A. Latar Belakang

Penyakit brucellosis di Indonesia diketahui pertama kali pada tahun 1935, ditemukan pada sapi perah di Grati, Pasuruan, Jawa Timur. Brucellosis merupakan penyakit zoonosis yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit pada hewan seperti sapi, kambing, domba, babi, bison dan rusa kutub, serta juga dapat berdampak pada manusia. Kelainan utama akibat brucellosis adalah kegagalan reproduksi dan abortus. Hewan yang terinfeksi sepanjang hidupnya dan akan menyebarkan kuman *brucella* melalui sekreta alat kelamin dan melalui air susunya. Penyakit ini sudah menjadi masalah di kalangan peternak, karena sudah menyebar luas di propinsi yang ada di Indonesia, ada kesan sulit didiagnosa maupun diobati, menghambat laju populasi ternak, tidak sedikit menimbulkan kerugian ekonomi dan menular pada manusia (zoonosis).

Brucellosis dapat menyerang semua kelompok usia dan semua jenis kelamin. Infeksi pada sapi betina dapat menyebabkan placentitis yang diikuti abortus pada masa kebuntingan 5-9 bulan. Kerugian ekonomi akibat brucellosis pada sapi dapat terjadi antara lain karena : (a) abortus, (b) sterilitas dan infertilitas, (c) kematian dini anak-anak sapi dan (d) penurunan dan penghentian produksi. Cara penularan brucellosis adalah melalui saluran pencernaan (per os), intra konjungtiva atau melalui kawin suntik.

Penyakit Brucellosis disebabkan oleh bakteri *Brucella abortus*, bakteri ini pertama kali berhasil diisolasi pada tahun 1938. Pengujian yang dilakukan dalam mengidentifikasi penyakit ini yaitu RBT (*Rose Bengal Plate Test*) yang kemudian jika hasil menunjukkan positif maka dilakukan uji CFT (*Complement Fixation Test*) yang biasa dilakukan di laboratorium Serologi. Sampel yang digunakan dalam melakukan test pengujian ini adalah serum dari hewan mamalia. Pemeriksaan ini prinsipnya menentukan adanya antibodi terhadap bakteri *Brucella* sp. di dalam serum atau cairan tubuh. Beberapa cara yang sifatnya masih konvensional dapat dipakai dalam pengujian seperti: Uji RBT, dan CFT. Uji Rose Bengal menggunakan

antigen bakteri *Brucella* sp. yang diberi zat warna Rose Bengal, agar memudahkan pembacaan bila terjadi aglutinasi.

B. Tujuan

Melakukan dan mengetahui tata laksana uji Brucellosis pada serum darah sapi dengan metode *Rose Bengal Test* (RBT). Serta mengetahui prinsip kerja metode RBT.

C. Tinjauan Pustaka

1. Perkembangan penyakit Brucellosis

Penyebaran penyakit *Brucellosis* hampir ada di seluruh dunia, utamanya pada negara berkembang. Kemunculan penyakit Brucellosis di Indonesia terjadi pada tahun 1935, yaitu ditemukan pada sapi perah di Grati, Pasuruan, Jawa Timur. Penyakit Brucellosis disebabkan oleh bakteri *Brucella abortus* yang mana bakteri ini berhasil diisolasi pada tahun 1938 dilakukan oleh Kirschner dari kasus abortus sapi perah di daerah Bandung, Jawa Barat. Saat ini penyakit brucellosis sudah diketahui terdapat di seluruh Indonesia, kecuali di Bali dan Lombok. Penyakit ini bersifat endemis dan kadangkadang muncul sebagai epidemik pada banyak peternakan sapi perah di Jakarta, Bandung, Jawa Tengah dan Jawa Timur (Setiawan, 2012).

2. Agen Penyebab

Brucellosis adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri genus *Brucella* dan dikategorikan oleh *Office International des Epizooties* (OIE) sebagai penyakit zoonosis. Setiap spesies *Brucella* mempunyai hewan target sebagai reservoir, *Brucella abortus* pada sapi, *Brucella suis* pada babi, *Brucellacanis* pada anjing, *Brucella ovis* pada domba, *Brucella melitensis* pada kambing dan *Brucella neotomae* pada tikus hutan. Infeksi hampir selalu ditularkan melalui kontak langsung atau tidak langsung dengan hewan yang terinfeksi atau produk asal hewan (Kurniawan., dkk, 2010). Berikut tingkatan taksonomi dari *Brucella*.

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Class : Alphaproteobacteria

Ordo : Rhizobiales

Famili : Brucellaceae

Genus : *Brucella*

Spesies : *Brucella* spp.

Bakteri ini tergolong genus *Brucella*, famili *Brucellaceae* . Bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang halus (kokus basilus), panjang 0,6- 1,5 mikron dan lebar 0,5-0,7 mikron, serta berkoloni tunggal atau berpasangan. Sifat-sifat biologik lainnya dari kuman *B. abortus* adalah bila terdapat di luar tubuh inang tidak tahan terhadap pemanasan dan desinfektan. Sifat ini penting diketahui dalam hubungannya dengan upaya penanggulangannya, yakni dengan memutus siklus penularannya. Kuman *B. abortus* bila terdapat di dalam tubuh inang, dapat tumbuh di dalam sel (fakultatif intraseluler) dan sulit untuk difagosit oleh sel-sel makrofag (Septyawati., dkk, 2013).



Gambar 5.1. *Brucella* sp.

Sumber: Zunoticia.com

Brucella di luar tubuh induk semang dapat bertahan hidup pada berbagai kondisi lingkungan dalam waktu tertentu. Kemampuan daya tahan hidup bakteri *Brucella* pada tanah kering adalah selama 4 hari di luar suhu kamar, pada tanah yang lembab dapat bertahan hidup selama 66 hari dan pada tanah yang becek bertahan hidup selama 151-185 hari (Prawira, 2014).

3. Penularan Brucellosis

Penularan brucellosis pada hewan ternak melalui saluran pencernaan setelah memakan atau meminum bahan (makanan) yang tercemar oleh bahan yang diabortuskan. Sedangkan manusia dapat tertular setelah minum susu sapi atau kambing yang terinfeksi tanpa dipasteurisasi terlebih dahulu. Berdasarkan percobaan yang dilakukan dapat dibuktikan bahwa penularan pada sapi dapat juga melalui selaput lendir konjunktiva, goresan pada kulit atau dengan inseminasi yang semennya tercemar oleh kuman brucella (Novita, 2014).

Setelah kuman masuk ke dalam tubuh, akhirnya menyebar dan menetap pada organ tubuh melalui pembuluh darah dan limfe. Terakumpuhnya kuman di dalam saluran reproduksi terutama di placenta dan endometrium sapi yang sedang bunting sangat didukung oleh adanya zat penumbuh yang dikenal dengan nama eritritol (sifat spesifitas jaringan). Pada bentuk infeksi yang akut, kuman brucella selain bermukim di dalam placenta, juga di dalam lambung dan paru-paru foetus (janin) dan dikeluarkan bersama-sama foetus dan cairan uterus waktu abortus (Kurniawan., dkk, 2010).

Bentuk infeksi yang kronis, pada sapi betina dewasa kuman bermukim di dalam kelenjar susu, kelenjar limfe supramammæ, retrofaringeal, iliaka interna dan eksterna . Oleh karena itu kuman dapat dikeluarkan bersama air susu . Pada sapi jantan, kuman brucella bermukim di dalam testis, epididimis, vas deferens dan kelenjar vesikularis, sehingga kuman dapat dikeluarkan bersama semen (mani) sewaktu ejakulasi (Setiawan, 2012).

Gejala *Brucellosis* pada sapi betina adalah terjadinya abortus pada usia kebuntingan lima sampai enam bulan. Jumlah *Brucella abortus* sangat tinggi pada janin yang abortus, leleran vagina, plasenta dan merupakan sumber penularan yang potensial. Pada kelahiran berikutnya, biasanya anak dilahirkan normal, kuman tersebut sering ada dalam uterus dan kelenjar susu. Infeksi pada sapi jantan biasanya berupa radang testis dan epididimitis. Gejala pada manusia meliputi demam, anoreksia, poliartritis, meningitis, pneumonia, endocarditis dan gejala klinis lainnya yang biasa muncul karena infeksi bakteri pada umumnya (Septyawati., dkk, 2013).

4. Pengobatan penyakit Brucellosis

Pengobatan *brucellosis* pada manusia dapat diberikan antibiotika seperti tetrasiklin, doksisisiklin, streptomisin dan rifampisin minimal selama enam minggu. Pada anak di bawah 8 tahun dan ibu hamil sebaiknya diberikan rifampisin dan kombinasi trimethoprim dengan sulfamethoxazole selama enam minggu. Masa inkubasi *brucellosis* pada manusia bervariasi mulai dari lima hari hingga beberapa bulan, rata-rata adalah dua minggu. Gejala yang timbul mula-mula adalah demam, kedinginan dan berkeringat pada malam hari. Kelemahan dan kelelahan tubuh adalah gejala umum. Kadang ditemukan batuk non produktif dan pneumonitis. Kesembuhan dapat terjadi dalam 3-6 bulan (Prawira, 2014).

Pencegahan *brucellosis* pada manusia dapat dilakukan dengan penanggulangan dan kontrol penyakit pada hewan sebagai hospes, mengurangi kontak dengan hewan, memakai alat pelindung diri jika kontak dengan hewan dan memasak secara benar susu segar yang akan diminum (Novita, 2014).

5. Proses Pengujian

Pengujian Brucellosis diawali dengan pengujian *Rose Bengal Plate Test* (RBPT) yang bertindak sebagai uji skrining. RBPT adalah reaksi pengikatan antigen yang telah dilemahkan dan diwarnai dengan antibodi dari serum. Pengikatan antigen permukaan dengan antibodi menyebabkan terjadinya aglutinasi. Bila tidak terjadi aglutinasi, ini memiliki arti tidak ada antibodi dalam serum. RBPT ini bertindak sebagai skrining. Serum yang bereaksi positif pada RBPT kemudian dilanjutkan dengan uji *Complement Fixation Test* (CFT) sebagai uji penegak. Tujuan dari test ini adalah untuk mengenali adanya antibodi dalam serum atau tidak (Prawira, 2014).

D. Metode

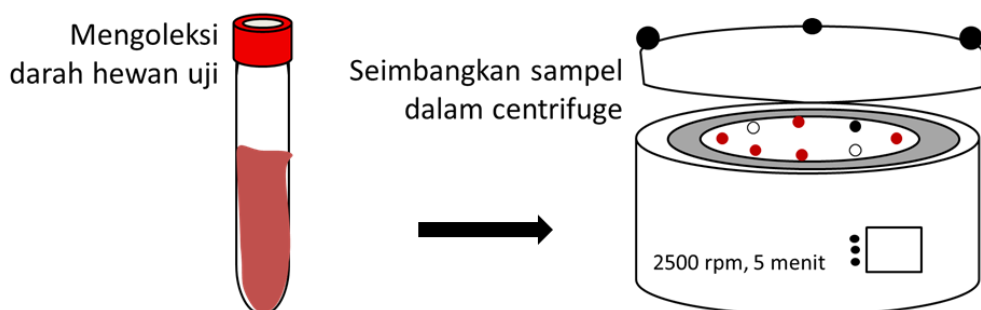
A. Alat dan Bahan

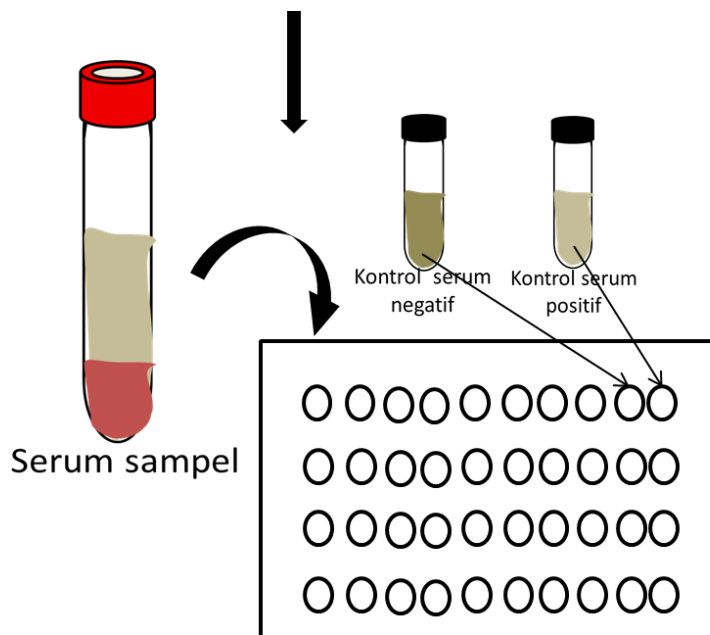
Alat yang digunakan pada prosedur pengujian RBT adalah mikropipet, microplate, rotary agglutinator. Bahan yang digunakan berupa reagensia antara lain serum positif dan negatif, Rose Bengal Antigen dan desinfektan berupa aquadest dan alkohol 70%.

B. Prosedur Kerja

Pengujian RBT menggunakan sampel berupa serum darah, berikut adalah teknik pengujian RBT untuk Brucellosis.

1. Mengoleksi darah hewan ternak ke dalam tabung venojet.
2. Tabung dicentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit, sehingga serum akan terpisah dari sel darah merah.
3. Pengujian dilakukan menggunakan makroplate yang telah dibersihkan menggunakan kapas beralkohol lalu dikeringkan.
4. Mengambil 25 μ l serum darah sapi atau 75 μ l serum kambing menggunakan mikropipet dan teteskan diatas makroplate (80 lubang) pada lubang 1-78.
5. Kontrol serum positif ditetaskan pada lubang 79 dan kontrol serum negatif pada lubang nomor 80.
6. Meneteskan 25 μ l RBT antigen diatas serum.
7. Menghomogenkan antigen dan serum dengan memutar makroplate sebanyak 4 kali dan menggoyangkannya sebanyak 10 kali dari tiap sisi makroplate.
8. Makroplate kemudian diletakkan pada rotary agglutinator selama 4 menit dengan kecepatan sedang, kemudian mengamati aglutinasi yang terbentuk.





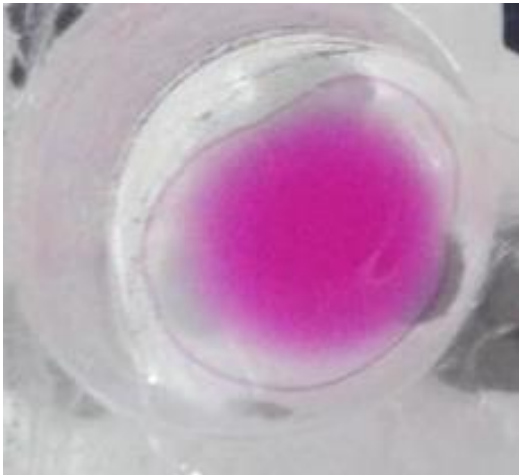
Homogenkan makroplate dan letakkan pada rotary agglutinator selama 4 menit dengan kecepatan sedang, kemudian mengamati aglutinasi yang terbentuk

E. Hasil dan Pembahasan

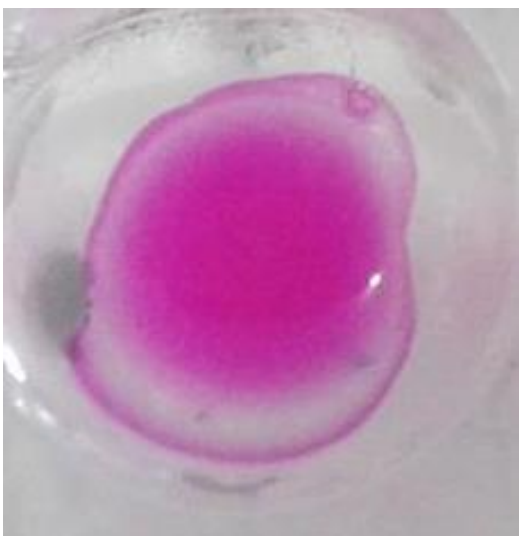
1. Hasil

Tabel 5.1. Hasil Pengujian Brucellosis pada beberapa sampel serum darah sapi dengan uji RBT

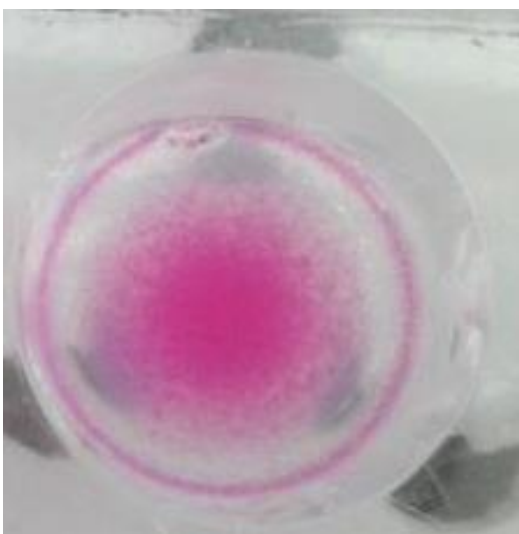
Hasil Pengamatan	Keterangan
	Tidak terbentuk aglutinasi (0)



Terbentuk aglutinasi (+1)



Terbentuk aglutinasi (+2)



Terbentuk aglutinasi (+3)

2. Pembahasan

Pengujian RBT (*Rose Bengal Plate Test*) menggunakan *Rose Bengal Antigen*, agar berdasarkan tabel 1.1 ///ketika melakukan pengujian dapat terlihat apakah sampel positif terkena Brucellosis atau tidak melalui pembentukan aglutinasi. Jika tidak terjadi aglutinasi lebih dari 4 menit, ditandai dari campuran antigen dan serum tetap homogen dan berwarna ungu kemerah-merahan, hasilnya adalah negative (-) antibodi brucelosis. Apabila terjadi aglutinasi terbentuk garis terputus-putus dengan tepi dikelilingi partikel halus, dianggap positif 1 (+), jika aglutinasi terlihat jelas dan cepat, membentuk partikel aglutinasi kasar dengan tepi pinggiran lebar, adalah positif 2 (++), dan jika aglutinasi sempurna, jika terbentuk butiran yang sangat jelas dan kasar, positif 3 (+++). Pemeriksaan ini prinsipnya menentukan adanya antibodi terhadap bakteri *Brucella* di dalam serum atau cairan tubuh.

Pengujian RBT dilakukan dengan menggunakan sampel berupa serum. Jika tidak langsung diujikan serum akan disimpan didalam refrigerator pada suhu 4°C. Jenis sampel yang digunakan kadang juga berupa cloth darah, sehingga perlu dipisahkan menggunakan sentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 1500 G atau dengan cara mendiampkannya di suhu ruang dalam beberapa menit, kemudian serum akan terbentuk akan tetapi hal ini membutuhkan waktu yang cukup lama. Kondisi serum harus dalam keadaan bebas dari mikroorganisme. Kemudian hasil dari pengujian direkam dalam formulir pengujian serologi RBT.

Pengujian RBT dapat dilakukan pada hewan mamalia besar berupa sapi dan hewan mamalia kecil contohnya kambing. Pada pengujian RBT sebelumnya telah dilakukan percobaan dengan menggunakan beberapa perbandingan, agar reaksi positif dari sampel dapat terlihat dengan jelas. Berdasarkan percobaan telah ditentukan bahwa pada hewan mamalia kecil cukup menggunakan perbandingan 1:1, dimana yang dimaksud disini adalah satu untuk serum dan satu untuk *Rose Bengal Antigen* dengan menggunakan takaran ukuran micropipette 25µl. Sedangkan untuk hewan mamalia besar digunakan perbandingan 1:3 yaitu satu untuk serum dan tiga untuk *Rose Bengal Antigen* dengan menggunakan takaran ukuran micropipette, sehingga

antigen yang dibutuhkan sebanyak 75 µl. Berdasarkan hasil percobaan jika takaran yang digunakan melebihi atau kurang dari perbandingan yang telah ditentukan maka pembentukan aglutinasi akan kurang nampak, sehingga hasil pengujian dapat terpengaruh.

F. Kesimpulan

Uji Brucellosis menggunakan metode RBT dilaksanakan menggunakan sampel berupa serumdarah ternak. Serum kemudian direaksikan dengan Rose Bengal Antigen di dalam makroplate. Pembacaan hasil RBT dilakukan setelah makroplate diletakkan diatas *Rotary Agglutinator*. Prinsip kerja RBT yaitu berdasarkan reaksi antara antigen dan antibody ditandai dengan adanya pembentukan aglutinasi.

G. Referensi

- Kurniawati, Utami., Pratiwi T., Sri W. 2010. Pengaruh Vaksinasi Brucellosis Pada SapiPerah Dengan Berbagai Paritas TerhadapEfisiensi Reproduksi. *Jurnal Ilmu Ternak Vol.6 (1)*.
- Novita, Risqa. 2014. Perencanaan Surveilans *Brucellosis* pada Manusia di Jawa. Baratdengan Menggunakan Metode *GeographicalInformation System* (GIS). *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia Vol. 3 (1)*.
- Prawira, Sandhi Y. 2014. *Pemeriksaan brucella sp. Pada sampel penyakit hewan di balai besar uji standar karantinapertanian*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Septyawati, Reny., Nyoman Sadra D., Nyoman S. 2013. Serodeteksi *Brucella abortus* pada Sapi Bali di Timor Leste. *Indonesia Medicus Veterinus Vol. 2 (5)*.
- Setiawan, Endhie. 2012. Brucellosis pada Sapi. *Wartazoa Vol. 2 (1)*.
- Zunoticia.com. <https://www.zunoticia.com/brucelosis/>.

Identifikasi Telur Cacing pada Feses Ternak dengan Metode Uji Apung dan Sedimentasi

6

Erwinda

A. Latar Belakang

Indonesia adalah salah satu negara kepulauan terbesar di dunia, yang beriklim tropis dan memiliki tingkat flora dan fauna yang beragam. Tanah yang subur sangat cocok digunakan sebagai lahan pertanian. Penduduk mayoritas bermata pencarian petani tentunya tidak jarang dari mereka yang menjadi peternak tradisional. Kerbau, sapi dan kambing adalah binatang yang paling banyak dipelihara.

Rerumpunan sebagai sumber makanan sapi dapat ditemukan disekitar kebun atau lingkungan tempat tinggal mereka. Petani banyak memilih untuk beternak karena adanya sumber makanan yang melimpah dan mudahnya perawatan ternak itu sendiri. Sapi memiliki nilai jual yang tinggi dan semakin mahal. Pakan ternak merupakan faktor yang sangat penting untuk meningkatkan kualitas daging dan susu. Hewan juga memiliki syarat unsur nutrisi yang sama dengan manusia. Makanan yang baik yaitu mengandung protein, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral.

Kesehatan ternak merupakan kunci penentu keberhasilan suatu usaha peternakan. Seperti munculnya suatu slogan dimana pencegahan lebih baik daripada pengobatan, dari hal tersebut munculnya keinginan untuk memperbaikinya dengan tindakan-tindakan seperti sanitasi, vaksinasi dan pelaksanaan. Banyak sekali penyakit yang dapat menyerang sapi seperti penyakit yang disebabkan oleh infeksi cacing serta beberapa yang lainnya.

Parasit di Indonesia masih kurang mendapat perhatian karena kurangnya pemahaman, terutama para peternak tradisional. Penyakit parasitik merupakan salah satu faktor yang dapat menurunkan produktivitas dan biasanya tidak mengakibatkan kematian, namun menyebabkan kerugian yang sangat besar berupa daya produktivitas ternak. Parasit bertahan hidup dalam tubuh hospes dengan memakan jaringan tubuh, mengambil nutrisi dan menghisap darah. Ternak yang terinfeksi parasit dapat mengalami penurunan bobot badan, pertumbuhan lambat, penurunan daya tahan tubuh dan kematian. Sapi yang terinfeksi parasit terlihat lebih kurus.

Hewan kurus terlihat penonjolan tulang rusuk, tulang punggung, tulang pinggul atau tulang lainnya dan legok lapar terlihat jelas, karena mengalami penurunan berat badan, akibatnya ternak mempunyai nilai jual rendah.

Telur cacing dapat ditemukan pada tempat lembab yang dibawa oleh siput dan lalat. Lalat hinggap dengan membawa telur cacing, sedangkan siput akan membawa dalam bentuk serkaria dan ditempelkan pada rerumputan yang lembab. Kandang yang tidak baik juga dapat mempengaruhi kesterilan makanan dan memicu tumbuhnya parasit. Penyakit ternak akibat parasit cacing dapat merugikan secara ekonomis, karena dapat menurunkan hasil dari ternak tersebut.

Cacing parasit usus salah satu parasit yang sering menginfeksi sapi. Untuk mengetahui apakah sapi-sapi tersebut terbebas dari cacing parasit usus, maka perlu untuk dilakukan pengecekan kesehatan, salah satunya dengan melakukan identifikasi cacing parasit usus pada feses sapi.

B. Tujuan Percobaan

Kerja paraktek yang telah dilakukan di Balai Besar Veteriner Maros bertujuan untuk memberikan pengalaman kerja bagi mahasiswa berupa berbagai tehnik pengujian di beberapa laboratorium Balai Besar Veteriner Maros. Pengalaman kerja ini dapat menjadi latihan bagi mahasiswa untuk bekerja secara profesional sesuai bidang yang ditekuni. salah satu laboratorium yang pernah di dilakukan percobaan yaitu laboratorium parasitologi dimana bertujuan untuk mengidentifikasi jenis cacing pada berbagai jenis feses hewan.

C. Tinjauan Pustaka

Nematoda berasal dari bahasa Yunani, yaitu Nema artinya benang. Tubuh cacing tidak bersegmen, berukuran sangat kecil, panjang, tubuhnya bilateral, hidup didalam tanah, tanaman, air, hewan dan manusia.¹ Nematoda dewasa berbentuk silindris memanjang, bagian ujung depan dilengkapi kaitan gigi, papilla, spekula dan bursa. Dinding badan terdiri dari, di bagian luar terdapat hialin, kutikula nonseluler, epitel subkutikula, lapisan sel otot. Mulut dikelilingi oleh bibir, papilla dari pada beberapa spesies dilengkapi dengan kelenjar esophagus (Bambang dkk, 2014).

Cacing nematoda tidak memiliki sistem sirkulasi. Sistem saraf terdiri dari suatu lingkaran atau komisura dari ganglia yang berhubungan yang meliputi esofagus. Organ reproduksi jantan terdiri dari testis, vasdeferens, vesikula seminalis dan duktus ejakulatoris. Alat kopulasinya terdiri dari satu atau dua spikula dan kadang-kadang

gubernakulum. Beberapa spesies mempunyai bursa kopulatrik yaitu alat untuk memegang betina saat kopulasi, sedangkan organ reproduksi betina terdiri dari ovarum, oviduk, reseptakulum seminalis, uterus, ovejektor, dan vagina (Rahayu, 2015).

Cacing nematoda memiliki ukuran beragam, ada yang panjangnya beberapa milimeter adapula yang melebihi satu meter. Nematoda memiliki kepala, ekor, dinding, rongga badan dan alat-alat lain yang sedikit lebih lengkap serta untuk sistem pencernaan, ekskresi dan reproduksi terpisah. Nematoda memiliki siklus hidup langsung tanpa inang antara. Cacing ini pada umumnya berkembangbiak dengan cara bertelur tapi adapula yang vivipar dan yang berkembang biak secara partenogenesis. Seekor cacing betina dapat bertelur sebanyak 20-200.000 butir dalam sehari. Telur tersebut dikeluarkan dari badan hospes dengan tinja. Larva biasanya mengalami pertumbuhan diikuti dengan pergantian kulit. Parasit ini memiliki bentuk infeksi beragam ada yang masuk secara aktif ada pula yang tertelan atau masuk melalui gigitan vektor (Susanto dkk, 2008).

Faktor-faktor lingkungan (suhu, kelembaban, dan curah hujan) serta sanitasi yang kurang baik dapat mempengaruhi berkembangnya parasit khususnya cacing gastrointestinal pada hewan ternak.¹⁷ Spesies, umur, jenis kelamin dan kondisi hewan atau imunitas yang merupakan faktor intrinsik dari tubuh ternak juga mempengaruhi kepekaan hewan terhadap infeksi cacing (Darmono, 1993).

Sapi yang terinfeksi cacing parasit usus akan mengalami penurunan kemampuan mukosa usus dalam transpor glukosa dan metabolisme. Apabila ketidakseimbangan ini cukup besar, akan menyebabkan menurunnya nafsu makan, serta tingginya kadar nitrogen didalam tinja yang dibuang karena tidak dipergunakan. Hal tersebut tentunya berakibat pada penurunan berat badan dan keterlambatan pertumbuhan, terutama pada ternak muda pada masa pertumbuhan. Pakan yang kurang baik menjadi salah satu pemicu berbagai bibit penyakit, sehingga akan mempertinggi kemungkinan terinfeksi ternak oleh cacing parasit usus (Novese dkk, 2013).

Sapi digolongkan sebagai hewan mamalia atau hewan yang menyusui yang termasuk kedalam golongan ruminansia. Ruminansia memiliki sistem pencernaan lebih rumit dibandingkan hewan mamalia lain. Lambung ruminansia memiliki empat ruang yaitu, paling depan disebut rumen, kemudian retikulum, omasum dan

abomasum yang berhubungan dengan usus. Mikroba yang bekerja didalam lambung, mengakibatkan diet yang digunakan oleh ruminansia untuk mengasorpsi nutrien-nutriennya akan lebih kaya gizi. Ruminansia memperoleh nutriennya, sebagian besar dengan mencerna mikroorganisme mutualistik, yang bereproduksi cukup cepat didalam rumen untuk mempertahankan populasi yang stabil (Campbell dkk, 2008).

Menurut morfologinya cacing parasitik pada sapi dibagi menjadi tiga kelas, yaitu trematoda, cestoda, dan nematoda. Nematoda mempunyai jumlah spesies terbanyak diantara cacing-cacing yang hidup sebagai parasit. Agen parasit tersebut berbeda-beda baik dari habitat, daur hidup, dan hospes parasit. Cacing ini adalah jenis cacing yang banyak menginfeksi ruminansia karena memiliki siklus hidup langsung. Telur yang diidentifikasi dari feses sapi dan kerbau berasal dari cacing parasit usus. Yang ditemukan berasal dari 2 kelompok yaitu kelas Nematoda dan Trematoda. Telur dari kelas Nematoda lebih banyak ditemukan daripada kelas Trematoda di dalam feses sapi dan kerbau (Novese dkk, 2013).

Menurut Campbell (2008) cara kerja lambung sapi yaitu:

1. Ketika sapi mengunyah dan menelan rumput untuk pertama kalinya, bolus (anak panah hijau) memasuki rumen.
2. Beberapa bolus juga memasuki retikulum. Didalam rumen maupun retikulum prokariota dan protista mutualistik (terutama siliata) mulai bekerja mengolah makanan yang kaya selulosa. Sebagai produk sampingan dari metabolismenya, mikroorganisme menyekresikan asam lemak. Sapi secara meregurgitasi dan mengunyah kembali mamahan (anak panah merah) yang kemudian memecah serat, menyebabkan makanan lebih mudah diolah oleh kerja mikroba.
3. Sapi kemudian menelan kembali mamahan (anak panah biru) yang bergerak ke omasum, tempat air dihilangkan.
4. Mamahan yang mengandung banyak sekali mikroorganisme, akhirnya lewat ke abomasum untuk dicerna oleh enzim-enzim milik sapi itu sendiri (anak panah hitam).

Parasitologi adalah ilmu yang berisi kajian tentang organisme (jasad hidup), yang hidup dipermukaan atau didalam tubuh organisme lain untuk sementara waktu bahkan selama hidupnya. Parasit tersebut mengambil sebagian atau seluruh fasilitas hidup inang hingga organisme tersebut dirugikan. Kata parasitologi berasal dari dua kata yaitu parasitos yang berarti organisme yang mengambil makanan; logos artinya

ilmu; sitos artinya makan. Organisme lain atau organisme yang mengandung parasit disebut hospes atau tuan rumah (inang) (Safar, 2010).

Parasitisme mencakup setiap hubungan timbal balik suatu spesies dengan spesies lain untuk kelangsungan hidupnya. Satu jenis jasad mendapat makanan dari lingkungan jasad lain yang dirugikan bahkan dibunuhnya. Menurut derajat parasitisme ada beberapa yaitu komensalisme dimana jasad mendapat keuntungan dari jasad lain tetapi jasad lain tersebut tidak dirugikan, mutualisme yaitu hubungan dua jenis jasad yang keduanya mendapat keuntungan, simbiosis yaitu hubungan dua jenis jasad dan tidak dapat hidup terpisah, pemangsa adalah parasit yang membunuh terlebih dahulu mangsanya kemudian memakannya (Campbell dkk, 2008).

D. Metode Kerja

1. Alat dan Bahan

Alat pengaduk tinja (Mortar, Sendok), Saringan, Pipet pasteur, Mikroskop, Timbangan feces, Sentrifus, Tabung sentrifise, Botol pot plastik, Gelas obyek, Gelas penutup. Bahan yang digunakan adalah tinja hewan (Sapi, kerbau, kambing, domba, anjing, ayam, kucing dan kuda), 0,1% methilen blue, Garam jenuh atau gula jenuh

2. Prosedur kerja

a. Persiapan Pengujian

- 1) Tinja yang akan dikerjakan diletakkan dan ditata dimeja pengujian sesuai dengan nomor EPI dan nomor spesimen, untuk tinja yang tidak dikerjakan disimpan di refrigirator atau diberi bahan pengawet untuk mencegah perkembangan larva atau telur cacing.
- 2) Penguji akan merekam atau menulis kegiatan yang dilakukan dalam buku besar sebagai data.
- 3) Mempersiapkan alat dan bahan sudah tersedia pengujian sebelum diujikan.

b. Persyaratan penguji

- 1) Seorang penguji tinja harus berpengalaman di bidang pengujian telur cacing saluran pencernaan.
- 2) Seorang penguji harus mampu membuat jawaban hasil pengujian serta memasukkan data pengujian ke sistem komputer infolab parasitologi.

c. Pengambilan dan pengamanan spesimen

- 1) Contohnya spesimen tinja diambil langsung dari rektum hewan yang bersangkutan sekitar 5-10 gram, di letakkan dalam gelas dengan penutup.
- 2) Tinja dapat di simpan di dalam *container* yang berisi bahan pengawet formalin 10% apabila tidak dimungkinkan untuk dikirim langsung ke laboratorium

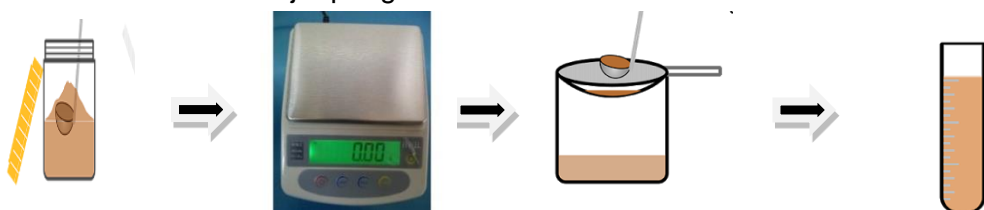
d. Pengujian

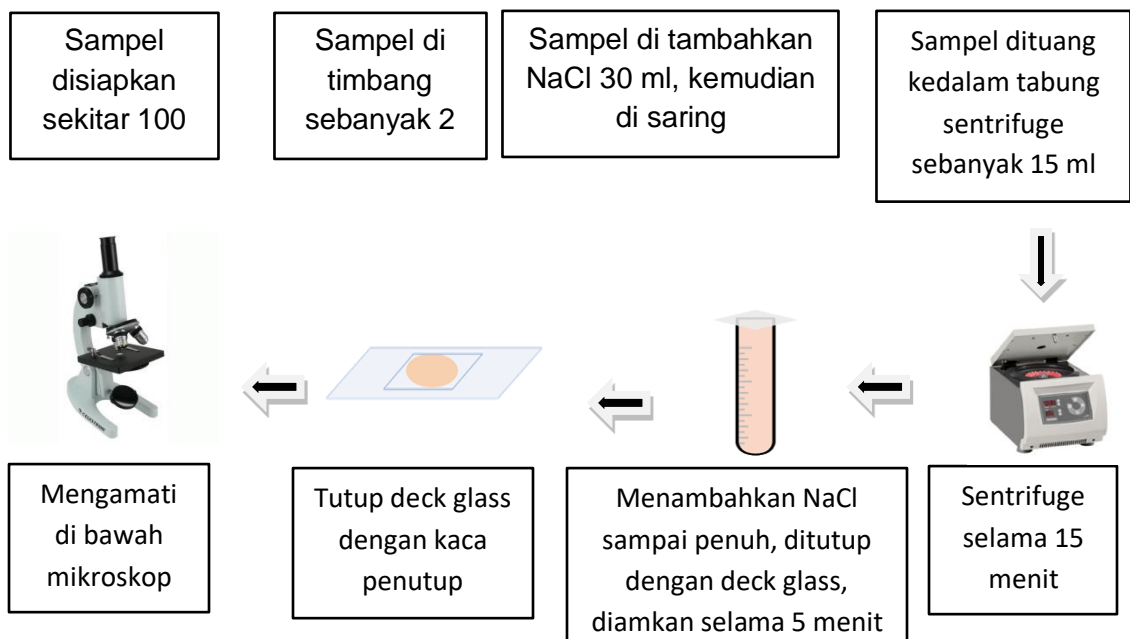
1) Teknik Uji apung (Pemeriksaan telur cacing Nematoda)

Menurut Gandrahusada (2000) menyatakan bahwa metode apung menggunakan larutan garam jenuh yang didasarkan atas berat jenis telur sehingga telur akan mengapung dan mudah diamati. metode ini digunakan untuk pemeriksaan feses yang mengandung sedikit telur. cara kerjanya didasarkan atas berat jenis larutan yang digunakan sehingga telur-telur mengapung dipermukaan dan juga memisahkan partikel-partikel yang besar dan terdapat dalam feses. Adapun tahap-tahap pelaksanaanya yaitu sebagai berikut:

- a) Tinja diambil sebanyak 2 gram, di letakkan dalam botol pot plastik mambahkan larutan gula atau garam jenuh sebanyak 30 ml, aduk tinja dan larutan pengapung sampai homogen dengan menggunakan mortar.
- b) Setelah campuran homogen, saring dengan menggunakan saringan teh dan hasil saringan masukkan ke dalam tabung sentrifuse sampai dengan volume 15 ml.
- c) Seimbangkan tabung sentrifuse, kemudian sentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit.
- d) Tambahkan lagi larutan gula atau garam tak jenuh sampai permukaan cairan itu tepat diatas permukaan tabung.
- e) Letakkan gelas penutup di atas tabung, biarkan selama 5 menit, ambil gelas penutup letakkan kedalam obyek dan periksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x.

Gambar Skema Proses Uji Apung





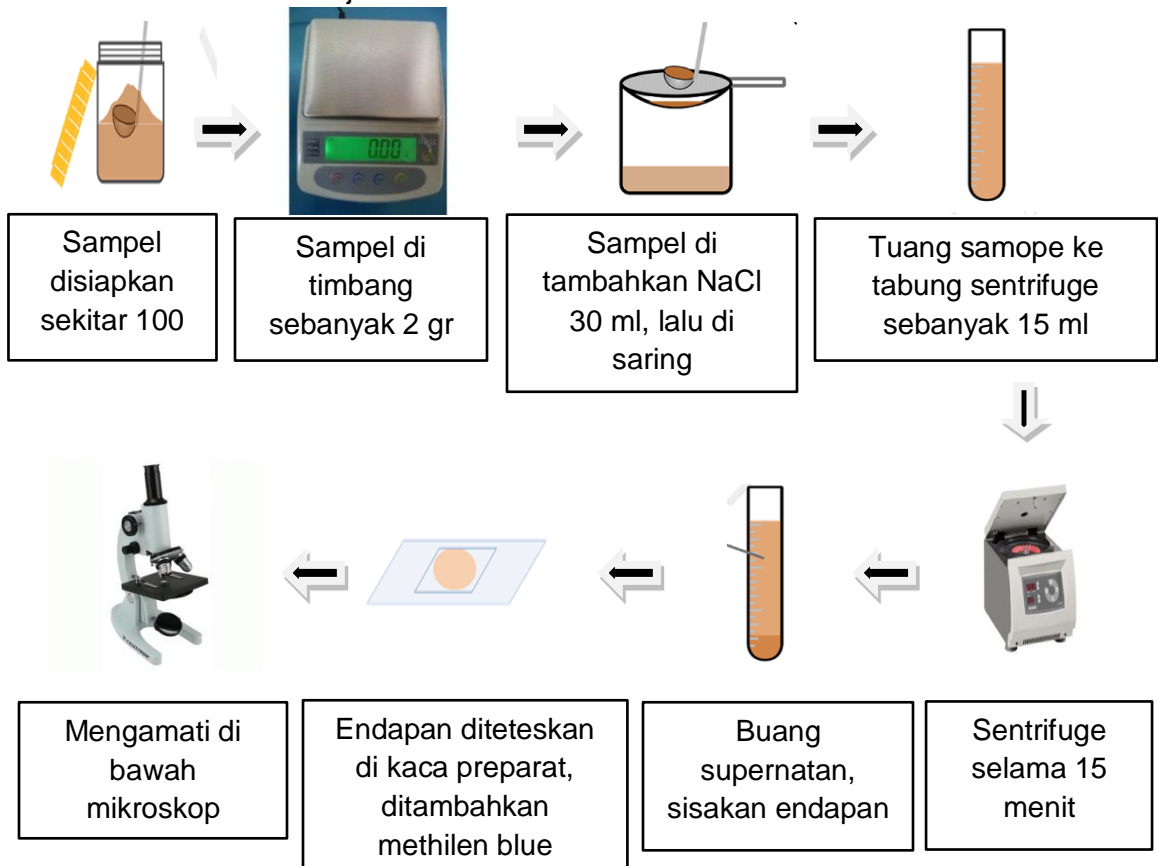
2) Teknik Uji Sedimentasi (Pemeriksaan telur cacing Termatoda dan cestoda)

Menurut Gandrahusada (2000) menyatakan bahwa metode sedimentasi adalah pemisahan larutan berdasarkan perbedaan BJ, dimana partikel yang tersuspensi akan menghadap ke dasar wadah. Metode sedimentasi dilakukan dengan memutar sampel atau larutan uji dengan menggunakan centrifuge dengan kecepatan (rpm) dan waktu tertentu. metode sedimentasi dari segi proses pemeriksaan waktu yang digunakan lebih cepat dan juga metode sedimentasi lebih mudah dalam mendapatkan telur cacing dibandingkan dengan metode lain. Adapun tahap-tahap pelaksanaanya yaitu sebagai berikut:

- Timbang 2 gram tinja dan campur dengan sedikit air kemudian aduk sampai merata dengan menggunakan mortar, setelah campuran homogen saring menggunakan saringan teh dan hasil saringan di masukkan ke dalam tabung sentrifus.
- Seimbangkan tabung sentrifus kemudian sentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Jika sentrifuse tidak bisa digunakan, diamkan campuran tersebut selama 20-30 menit.

- c) Buang supernatan dan sisakan sedimen (endapan) pada dasar tabung.
- d) Ambil sedimen yang berada di permukaan dengan pipet pasteur, letakkan di atas obyek (jika terlalu keruh tambahkan 1 tetes air dan aduk), kemudian tambahkan 1 tetes larutan Methylene Blue lalu campur merata dan tutup dengan gelas penutup.
- e) Periksa kedua obyek dengan mikroskop dengan perbesaran 100x.

Gambar Skema Proses Uji Sedimentasi



E. Hasil dan Pembahasan

No.	Jenis Spesimen	Jenis Cacing
1	Sapi	Nematoda, Trematoda dan Cestoda
2	Kambing	<i>Strongyle sp</i> , <i>Strongyloides sp</i> , <i>Haemonchus spp</i> , <i>Bunostomum spp</i> , <i>Trichostrongilus spp</i> ,

3	Kuda	<i>Strongylus spp, Cyathostomes spp, Triodontophorus spp, Strongyloides westeri, Oxyuris equi, dan Parascaris equorum</i>
4	Anjing	Cacing nematoda <i>gastrointestinal</i>
5	Babi	<i>Ascaris suum, Trichuris suis, Cacing Tipe Strongyl dan Macranchantorynchus hirudinaceus</i>

Balai Besar Veteriner (BBVet) Maros memiliki beberapa macam laboratorium yang memiliki jenis pengujian yang berbeda-beda, salah satunya yaitu laboratorium Parasitologi. Sampel yang diperoleh berasal dari peternakan, untuk mengetahui apakah hewan terinfeksi cacing atau tidak. Pengujian di dalam laboratorium parasitologi ini menggunakan berbagai macam sampel feses hewan salah satunya yaitu sapi, pengujiannya mengidentifikasi telur cacing yang terdapat pada feses yang diujikan.

Feses yang akan diuji haruslah menggunakan feses yang segar, dimana feses diambil pada waktu pagi hari, feses yang telah diambil kemudian dimasukan ke dalam toples 50 ml atau menggunakan plastik sampel. namun pada kondisi tertentu tidak dapat dilakukan maka diperlukan pengawet karna dapat merusak sel cacing yang terdapat di feses sehingga sulit untuk diidentifikasi. adapun yang biasa digunakan yaitu formalin setelah itu diberikan formalin. Sampel-sampel yang sudah diberi formalin. Tujuan dari pemberian formalin untuk menjaga morfologi sel serta mencegah perkembangan telur cacing. Formalin merupakan bahan kimia yang berfungsi sebagai desinfektan dan antimikroba yang dapat membasmi berbagai jenis bakteri pembusuk, disamping itu dapat mengeraskan jaringan tubuh.

Sebelum sampel sampai pada laboratorium pengujian biasanya sampel disimpan kedalam collbox (kotak pendingin), Collbox berfungsi menjaga feses supaya tetap dalam keadaan segar dan untuk mencegah penetasan telur cacing pada saat sebelum pemeriksaan.

Adapun jenis cacing yang sering ditemukan pada saat pengujian yaitu:

1. Telur cacing nematode

Dibawah mikroskop cahaya akan ditemukan telur cacing Nematoda untuk menentukan nama jenis telur cacing tersebut dapat dicocokkan morfologi telur cacing yang terlihat dimikroskop dengan literatur.

2. Telur cacing trematoda

Di bawah mikroskop cahaya/stero akan ditemukan telur cacing *Fasciola sp* dan *Paramphistomum sp*.

3. Telur cacing cestoda

Di bawah mikroskop cahaya akan ditemukan telur cacing cestoda. Untuk menentukan nama jenis telur cacing tersebut dapat di cocokkan morfologi telur cacing yang terlihat di mikroskop dengan literatur. Pada saat pengamatan tidak diperbolehkan untuk mengambil gambar hasil pengujian karena merupakan rahasia laboratorium.

F. Kesimpulan

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa dari berbagai jenis feses yang diujikan salah satunya sampel feses pada sapi terdapat beberapa jenis cacing yang menginfeksi hewan diantaranya yaitu nematoda, thermatoda, dan cestoda.

G. Referensi

- Bambang Siswanto, Liliana S dan Kurniatun H. 2014. Studi Keragaman dan Kerapatan Nematoda pada Berbagai Sistem Penggunaan Lahan di Sub Das Konto. Malang. *Jurnal Tanah Dan Sumberdaya Lahan*. Vol 1(1).
- Campbell, Reece. 2008. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 3*. Jakarta: Erlangga.
- Darmono. 1993. *Tata Laksana Usaha Sapi Kereman*. Yogyakarta: Kanisius.
- Gandrahusada, S.W. Pribadi dan D.I Herry 2000. *Parasitologi Kedokteran*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI
- Novese Tantri, Siti K dan Tri R.S. 2013. Prevalensi dan Intensitas Telur Cacing Parasit pada Feses Sapi (Bos Sp.) Rumah Potong Hewan (RPH) Kota Pontianak Kalimantan Barat. *Jurnal Protobiont*. Vol. 2(2).
- Rahayu, Sri. 2015. *Prevalensi Nematodiasis Saluran Pencernaan pada Sapi Bali (Bos Sondaicus) di Kecamatan Maiwa Kabupaten Enrekang*. Skripsi, Universitas Hasanuddin.
- Safar, Rosdiana. 2010. *Parasitologi Kedokteran*. Bandung: Yrama widya.
- Susanto, Inge dkk. 2008. *Parasitologi Kedokteran Edisi Keempat*. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Diagnosa Trypanosomiasis (Surra) dengan Metode Mikroskopik



Fiqril Arif dan Almi Abdila

A. Latar Belakang

Ilmu pengetahuan dan teknologi saat ini telah berkembang pesat, terbukti dengan adanya penemuan-penemuan yang telah dilakukan sehingga banyak terjadi perubahan yang signifikan akibat dari kemajuan pesat dari teknologi. Pengamatan manusia pada sebuah subjek sangat terbatas. Oleh karena itu dibutuhkan suatu subjek/objek tertentu yang membantu manusia untuk melakukan sebuah penelitian maupun pengamatan. di antaranya adalah dengan mempergunakan hewan-hewan percobaan. Penggunaan hewan percobaan terus berkembang hingga kini. Kegunaan hewan percobaan tersebut antara lain sebagai pengganti dari subyek yang diinginkan, sebagai model, di samping itu di bidang farmasi juga digunakan sebagai alat untuk mengukur besaran kualitas dan kuantitas suatu Obat sebelum diberikan kepada manusia.

Ilmu tentang parasit telah lama menunjukkan peran pentingnya dalam bidang kedokteran hewan dan manusia namun masih banyak penyakit baik pada hewan dan manusia yang merupakan masalah kesehatan di Indonesia. Pertumbuhan penduduk yang tinggi dan terjadinya urbanisasi yang tidak diimbangi sarana dan prasarana, telah menambah banyaknya daerah kumuh di perkotaan. Makin berkurangnya air bersih, pencemaran air dan tanah menciptakan kondisi lingkungan fisik yang memungkinkan perkembangan vektor dan sumber infeksi termasuk oleh penyakit parasitik. Identifikasi parasit yang tepat yaitu dengan cara membedakan sifat berbagai spesies parasit, kista, telur, larva dan juga pengetahuan tentang berbagai bentuk pseudoparasit dan artefak yang mungkin dikira suatu parasit. Teknik pemeriksaan secara laboratoris beberapa penyakit parasit yang lazim atau yang sering digunakan dalam praktikum yakni pemeriksaan secara kualitatif dan pemeriksaan kuantitatif. Pemeriksaan yang digunakan pada praktikum ini adalah dengan menggunakan metode apung (pemeriksaan kualitatif).

Kelompok cacing parasit mempunyai distribusi geografis paling luas dan memiliki prevalensi paling tinggi dibandingkan dengan cacing lain. Distribusinya

terutama tergantung beberapa faktor yaitu kebiasaan penduduk pada saat membuang feses, gaya hidup dan sanitasi lingkungan yang kurang diperhatikan. Dalam diagnosis infeksi cacing usus secara parasitologis, bahan yang diperiksa adalah tinja penderita. Kepekaan suatu metoda diagnosis sangat penting tidak hanya untuk menentukan ada tidaknya infeksi, namun juga untuk menguji keberhasilan penggunaan Obat cacing yang dipakai dalam pengobatan.

B. Tujuan

Untuk mengetahui Bagaimana uji trypanosomiasis (surra) dengan metode mikroskopik.

C. Tinjauan Pustaka

Darah adalah cairan yang terdapat pada sernua hewan tingkat tinggi yang berfungsi menginmkan zat-zat dan oksigen yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh, mengangkut bahan-bahan kimia hasil metabolisme, dan juga sebagai pertahanan tubuh terhadap virus atau bakteri. Dalam darah terkandung hemoglobin yang berfungsi sebagai pengikat oksigen. Untuk melihat struktur sel-sel darah dengan menggunakan mikroskop cahaya pada umumnya dibuat preparat sediaan apus. Preparat adalah tindakan atau proses pembuatan maupun penyiapan sesuatu menjadi tersedia, specimen patologi maupun anatomi yang siap dan diawetkan untuk penelitian dan pemeriksaan. Sediaan apus darah ini tidak saja untuk mempelajari bentuk masing-masing sel darah, tetapi juga dapat digunakan untuk menghitung perbandingan antar masing-masing jenis sel darah (Dorland, 2002).

Pembuatan preparat apus darah ini menggunakan suatu metode yang disebut metode oles (metode smear) yang merupakan suatu sediaan dengan jalan mengoles atau membuat selaput (film). Film darah (sediaan oles) dapat diwarnai dengan berbagai macam metode. Metode pewarnaan ini banyak digunakan untuk mempelajari morfologi sel-sel darah, sel-sel lien, sel-sel sumsum dan juga untuk mengidentifikasi parasit-parasit darah misalnya *Tripanosoma*, *Plasmodia* dan lain-lain dari golongan protozoa. (Suntoro, 1983).

Sediaan apus darah tepi adalah suatu cara yang sampai saat ini masih digunakan pada pemeriksaan di laboratorium. Prinsip pemeriksaan sediaan apus ini adalah dengan meneteskan darah lalu dipaparkan di atas objek glass, kemudian dilakukan pengecatan dan diperiksa dibawah mikroskop. Guna pemeriksaan apusan darah:

1. Evaluasi morfologi dari sel darah tepi (eritrosit, trombosit, dan leukosit).
2. Memperkirakan jumlah leukosit dan trombosit.
3. Identifikasi parasit (misal: malaria, microfilaria, dan Trypanosoma).

Sediaan apus darah tepi dapat diwarnai dengan berbagai macam metode termasuk larutan-larutan yang sederhana antara lain: pewarnaan Giemsa, pewarnaan acid fast, pewarnaan garam, pewarnaan Wright, dan lain-lain. Pewarnaan (Giemsa disebut juga pewarnaan Romanowski. Metode pewarnaan ini banyak digunakan untuk mempelajari morfologi sel-sel darah, sel-sel limfosit, sel-sel sumsum dan juga untuk mengidentifikasi parasit-parasit darah misal Trypanosoma, Plasmodia dan lain-lain dari golongan protozoa, (Maskoeri, 2008).

Pewarnaan (Giemsa Stain) adalah teknik pewarnaan untuk pemeriksaan mikroskopis yang namanya diambil dari seorang peneliti malaria yaitu Gustav Giemsa. Pewarnaan ini digunakan untuk pemeriksaan sitogenetik dan untuk diagnosis histopatologis parasit malaria dan juga parasit jenis lainnya (Jason and Frances, 2010).

Dasar dari pewarnaan Giemsa adalah presipitasi hitam yang terbentuk dari penambahan larutan metilen biru dan eosin yang dilarutkan di dalam metanol. Yaitu dua zat warna yang berbeda yaitu Azur B (Trimethylionin) yang bersifat basa dan eosin Y (tetrabromofluorescein) yang bersifat asam seperti kromatin, DNA dan RNA. Sedangkan eosin Y akan mewarnai komponen sel yang bersifat basa seperti granula, eosinofili dan hemoglobin. Ikatan eosin Y pada azur B yang beragregasi dapat menimbulkan warna ungu, dan keadaan ini dikenal sebagai efek Romanowsky Giemsa. Efek ini terjadi sangat nyata pada DNA tetapi tidak terjadi pada RNA sehingga akan menimbulkan kontras antara inti yang berwarna dengan sitoplasma yang berwarna biru (Arjatmo Tjokronegoro, 2010).

Pewarnaan Giemsa adalah teknik pewarnaan yang paling bagus dan sering digunakan untuk mengidentifikasi parasit yang ada di dalam darah (blood-borne parasite). Bahan pemeriksaan yang terbaik adalah darah segar yang berasal dari kapiler atau vena, yang dihapuskan pada kaca obyek. Pada keadaan tertentu dapat pula digunakan EDTA (Arjatmo Tjokronegoro, 2010.)

Jenis apusan darah

1. Sediaan darah tipis

Ciri- ciri apusan sediaan darah tipis yaitu lebih sedikit membutuhkan darah untuk pemeriksaan dibandingkan dengan sediaan apus darah tebal, morfologinya lebih jelas. bentuk parasit plasmodium berada dalam eritrosit sehingga didapatkan bentuk parasit yang utuh dan morfologinya sempurna. Serta lebih mudah untuk menentukan spesies dan stadium parasit dan perubahan pada eritrosit yang dihinggap parasit dapat dilihat jelas.

2. Sediaan darah tebal

Ciri- ciri apusan sediaan darah tebal yaitu membutuhkan darah lebih banyak untuk pemeriksaan dibanding dengan apusan darah tipis, sehingga jumlah parasit yang ditemukan lebih banyak dalam satu lapang pandang, sehingga pada infeksi ringan lebih mudah ditemukan. Sediaan ini mempunyai bentuk parasit yang kurang utuh dan kurang begitu lengkap morfologinya. (Sandjaja, 2007).

D. Metode Kerja

1. Alat dan Bahan

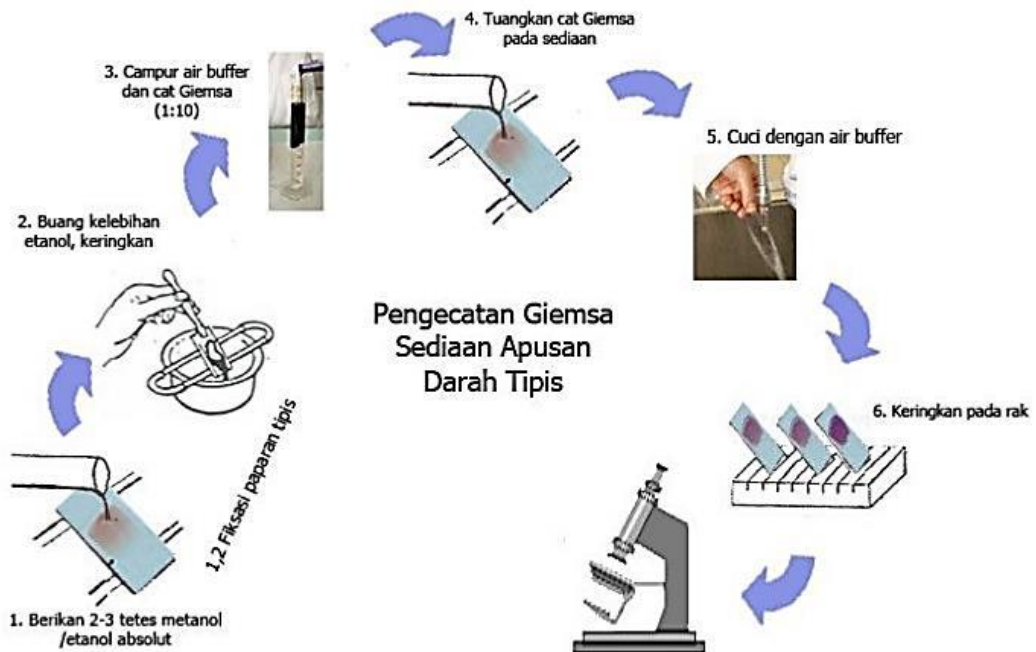
Alat yang digunakan diantaranya mikroskop, Erlenmeyer 50 ml, bak pewarnaan, pipet *Pasteur*, *Stop watch*, tabung mikro hematokrit, gelas beacker, corong, gelas ukur, tabung erlenmeyer, kertas saring, standar kaki untuk menyaring. Bahan yang digunakan diantaranya larutan stok Giemsa, kalium dihydrogen phospat anhidrous ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), methanol absolut (95%), immersion oil (minyak imersi), aquadestilata (air suling), magnesium sulfat (MgSO_4) 0,1 %, metilen blue 0,5%.

2. Prosedur Kerja

1. Preparat ulas darah tipis

- Preparat ulas darah tipis di atur sesuai dengan nomor EPI dan spesimen di atas meja pengujian.
- Fiksasi dengan methanol absolut selama kira-kira 2-3 menit.
- Keringkan lagi di udara bebas.
- Warnai dengan larutan giemsia + larutan buffer ph 6,5 (1 + 4) selama 45 menit.
- Bilas dengan air kran/buffer dan keringkan dengan mendirikan pada salah satu ujungnya.

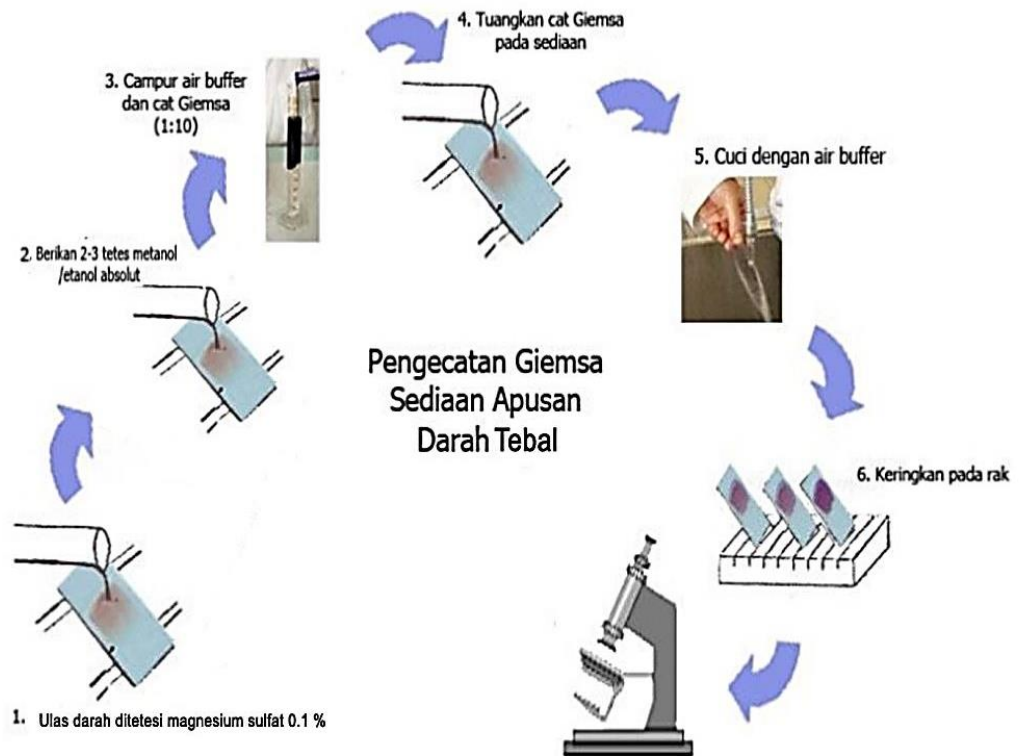
- f. Amati dibawah mikroskop dengan minyak immersi dan menggunakan mikroskop dengan menggunakan perbesaran 1000x.



Gambar 7.1 Pengecatan Giemsa Sediaan Apusan Tipis

Sumber: Padoli (2016).

2. Preparat ulas darah tebal
 - a. Preparat ulas darah tipis di atur sesuai dengan nomor EPI dan spesimen di atas meja pengujian.
 - b. preparat ulas darah tebal setelah kering ditetesi magnesium sulfat 0,1 % guna untuk melisiskan sel darah merah kemudian dikeringkan.
 - c. Fiksasi dengan methanol absolut selama kira-kira 2-3 menit.
 - d. Keringkan diudara bebas
 - e. Warnai dengan larutan Giemsa + larutan buffer ph 6,5 (1+4) selama 45 menit
 - f. Periksa dibawah mikroskop.



Gambar 7.2 Pengecatan Giemsa Sediaan Apusan Darah Tebal

Sumber: Padoli (2016)

E. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Pengamatan

No.	Jenis Pelayanan Diagnostik (per sampel)	Metode Uji	Jenis Sampel	Volume Sampel	Pengawet	Lama Uji
1.	Identifikasi telur cacing	Apung Sedimentasi	Feses	10 gr	Formalin	3 hari
			Feses	10 gr	Formalin	3 hari
2.	Identifikasi cacing	Whitlock	Feses	10 gr	Formalin	3 hari
3.	Identifikasi parasit darah	Mikroskopis	Ulas darah	-	Tanpa pengawet	5 hari

4.	Identifikasi ektoparasit	Mikrosko pis	Ektoparasit, kerokan kulit	-	Segar	2 hari
	Perhitungan telur cacing					
5.	dan protozoa (Mac Master)	EPG*	Feses	10 gr	Segar	2 hari

2. Pembahasan

Laboratorium adalah suatu tempat dimana mahasiswa, dosen, peneliti dan sebagainya melakukan suatu percobaan. Percobaan yang dilakukan menggunakan berbagai bahan kimia, peralatan gelas dan instrumentasi khusus yang dapat menyebabkan terjadinya kecelakaan bila dilakukan dengan cara yang tidak tepat. Kecelakaan itu juga dapat terjadi akibat kelalaian atau kecerobohan kerja, ini dapat membuat orang tersebut cedera dan bahkan orang yang ada disekitarnya. Keselamatan kerja di laboratorium merupakan dambaan bagi setiap individu yang sadar akan kepentingan kesehatan, keamanan dan kenyamanan kerja.

Pada lab ini khusus nya di lab parasitologi menangani semua jenis parasit yang berada pada substrak tertentu parasit sendiri adalah hewan renik yang bisa menurunkan produktivitas hewan yang ditumpanginya. Parasit bisa menyerang manusia dan hewan, seperti menyerang kulit manusia.

Pemeriksaan telur cacing kualitatif dengan metode apung menggunakan larutan NaCl jenuh atau larutan gula jenuh, dan terutama dipakai untuk pemeriksaan feses yang mengandung sedikit telur. Cara kerjanya yaitu berdasarkan berat jenis telur-telur yang lebih ringan daripada berat jenis larutan yang digunakan sehingga telur-telur terapung dipermukaan. Pemeriksaan ini hanya berhasil untuk telur-telur Nematoda, Schistosoma, Dibotrisefalus, telur yang berpori-poti dan familia Taeniidae, telur-telur Acanthocephala atau pun telur Ascaris yang infertil.

Metode apung merupakan metode yang paling cepat untuk mengetahui ada tidaknya telur didalam feses. Metode ini dilakukan dengan cara mengambil

bagian supernatan (cairan paling atas). Hasil negatif pada pemeriksaan dengan cara ini tidak berarti ternak bebas infeksi cacing, oleh karena itu, sebaiknya dilanjutkan dengan metode yang lain. Namun jika hasil pemeriksaan menunjukkan hasil yang positif, maka dapat diambil kesimpulan bahwa ternak terinfeksi cacing.

Pemeriksaan metode apung dapat dilakukan dengan dua cara yaitu tanpa disentrifugasi dan dengan disentrifugasi. Ada pun kekurangan metode apung yaitu penggunaan feses banyak dan memerlukan waktu yang lama, perlu ketelitian tinggi agar telur di permukaan larutan tidak turun lagi. Kelebihannya yaitu dapat di gunakan untuk infeksi ringan dan berat, telur dapat terlihat jelas.

Metode sedimentasi adalah pemisahan larutan berdasarkan perbedaan BJ, dimana partikel yang tersuspensi akan mengendap ke dasar wadah. Metode sedimentasi dilakukan dengan memusingkan sampel atau larutan uji menggunakan centrifuge dengan kecepatan (rpm) dan waktu tertentu. Metode ini digunakan untuk pemeriksaan feses yang mengandung sedikit telur. Cara kerjanya didasarkan atas berat jenis larutan yang digunakan, sehingga telur-telur terapung di permukaan dan juga untuk memisahkan partikel-partikel yang besar yang terdapat dalam tinja. Pemeriksaan ini hanya berhasil untuk telur-telur Nematoda.

Schistostoma, dibothriosephalus, telur yang berpori-pori dari famili Taenidae, telur-telur Achantocephala ataupun telur Ascaris yang infertil. Kekurangan dari metode ini adalah penggunaan feses banyak dan memerlukan waktu yang lama, perlu ketelitian tinggi agar telur di permukaan larutan tidak turun lagi. Kelebihan dari metode ini adalah dapat di gunakan untuk infeksi ringan dan berat, telur dapat terlihat jelas. Pemeriksaan metode apung ini terbagi menjadi 2, yaitu metode apung tanpa disentrifugasi dan metode apung dengan disentrifugasi. Perbedaan dari metode tersebut yaitu metode apung tanpa disentrifugasi mernakai tabung reaksi sedangkan pada metode apung disentrifugasi memakai tabung sentrifugasi dan alat sentrifugator.

Pemeriksaan telur cacing nematoda usus pada sampel tinja menggunakan metode sedimentasi. Metode sedimentasi mempunyai prinsip pemeriksaan yaitu sampel diendapkan melalui proses sentrifugasi kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10. Metode sedimentasi

ini membutuhkan alat sentrifuge untuk mengendapkan telur cacing ke dasar tabung maupun partikel - partikel lainnya yang terdapat dalam sampel feses.

Adapun kelebihan dan kekurangan dari pemeriksaan telur cacing cara sedimentasi dibandingkan dengan cara pengapungan (fluotasi) dan cara langsung adalah cara sedimentasi lebih sensitif sebab volume tinja yang diperiksa lebih banyak, dengan demikian hasil negatif dari pemeriksaan langsung bisa menunjukkan hasil positif bila diperiksa dengan konsentrasi. Meskipun pada sediaan cara sedimentasi terdapat partikel - partikel tinja, namun semua protozoa, telur dan larva yang ada akan terdeteksi, telur- telur cacing tetap utuh dan tidak terdistorsi mengendap didasar tabung. Dan cara ini juga merupakan cara yang lebih kecil kemungkinannya menjadi subjek kesalahan teknik. Namun jika proses sentrifugasi tidak dilakukan dengan benar maka kemungkinan besar akan memberikan hasil negatif palsu sebab partikel - partikel rusak atau tidak mengendap secara utuh akibat dari kesalahan proses sentrifugasi.

Darah adalah cairan yang terdapat pada semua hewan tingkat tinggi yang berfungsi mengirimkan zat-zat dan oksigen yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh, mengangkut bahan-bahan kimia hasil metabolisme, dan juga sebagai pertahanan tubuh terhadap virus atau bakteri. Dalam darah terkandung hemoglobin yang berfungsi sebagai pengikat oksigen. Untuk melihat struktur sel-sel darah dengan menggunakan mikroskop cahaya pada umumnya dibuat preparat sediaan apus. Preparat adalah tindakan atau proses pembuatan maupun penyiapan sesuatu menjadi tersedia. Spesimen patologi maupun anatomi yang siap dan diawetkan untuk penelitian dan pemeriksaan.

Sediaan apus darah ini tidak saja untuk mempelajari bentuk masing-masing sel darah, tetapi juga dapat digunakan untuk menghitung perbandingan antar masing-masing jenis sel darah tujuan dari identifikasi ini adalah banyak digunakan untuk mempelajari morfologi sel-sel darah, sel-sel lien. sel-sel sumsum dan juga untuk mengidentifikasi parasit-parasit darah misalnya tripanosoma, plasmodia dan lain-lain dari golongan protozoa. Juga Untuk melihat struktur sel-sel darah dengan mikroskop cahaya pada umumnya dibuat sediaan apus darah. Sediaan apus darah ini tidak hanya digunakan untuk mempelajari sel darah tapi juga digunakan untuk menghitung perbandingan

jumlah masing-masing sel darah. Pembuatan preparat apus darah ini menggunakan suatu metode yang disebut metode oles yang merupakan suatu sediaan dengan jalan mengoles atau membuat selaput (film) dan substansi yang berupa cairan atau bukan cairan di atas gelas benda yang bersih dan bebas lemak untuk kemudian difiksasi, diwarnai dan ditutup dengan gelas penutup.

Tujuan dari dilakukannya identifikasi menggunakan metode ektoparasit mikroskopik adalah mengetahui jenis parasit yang disebabkan oleh bakteri, jamur maupun virus pada spesies tertentu dalam uji ini yang banyak menerima sampel adalah sampel ikan. Untuk mencapai target produksi perikanan sesuai dengan yang diharapkan, berbagai permasalahan menghambat upaya peningkatan produksi tersebut, antara lain kegagalan produksi akibat serangan wabah penyakit ikan yang bersifat patogenik baik dari golongan parasit, jamur, bakteri, dan virus. Penyakit ikan biasanya timbul berkaitan dengan lemahnya kondisi ikan yang diakibatkan oleh beberapa faktor yaitu antara lain penanganan ikan, faktor pakan yang diberikan, dan keadaan lingkungan yang kurang mendukung. Pada padat penebaran ikan yang tinggi jika faktor lingkungan kurang menguntungkan misalnya kandungan zat asam dalam air rendah, pakan yang diberikan kurang tepat baik jumlah maupun mutunya, penanganan ikan kurang sempurna, maka ikan akan menderita stress. Dalam keadaan demikian ikan akan mudah terserang oleh penyakit.

Penularan penyakit ini bisa melalui air atau kontak langsung dengan ikan yang terinfeksi dan penularannya akan didukung oleh rendahnya kualitas air pada wadah tempat ikan dipelihara. Organisme ini berkembang biak dengan pembelahan biner dimana organisme yang dihasilkan akan kembali ke inang semula atau mencari inang baru didalam air. Diagnosa: a) Pengamatan secara visual terhadap tingkah laku dan gejala klinis yang timbul b) Pengamatan secara mikroskopis untuk melihat morfologi parasit melalui pembuatan preparat ulas dari organ kulit/mukus, sirip dan atau insang. Beberapa penelitian membuktikan bahwa ektoparasit *Trichodina sp* mempunyai peranan yang sangat penting terhadap penurunan daya tahan tubuh ikan dengan rendahnya sistem kekebalan tubuh maka akan terjadinya infeksi sekunder. Kematian umumnya terjadi karena ikan memproduksi lendir secara berlebihan dan akhirnya kelelahan atau bisa

juga terjadi akibat terganggunya sistem pertukaran oksigen, karena dinding lamela insang dipenuhi oleh lendir.

Trichodina sp menginfeksi dengan cara menempel di lapisan epitel ikan dengan bantuan ujung membrane yang tajam. Setelah menempel, parasit segera berputar-putar sehingga merusak sel-sel di sekitar tempat penempelannya, memakan sel-sel epitel yang hancur dan mengakibatkan iritasi yang serius. Pada lingkungan dengan populasi parasit yang cukup tinggi, umumnya apabila kadar bahan organik cukup tinggi, kondisi menjadi lebih berbahaya.

F. Kesimpulan

Trypanosomiasis atau surra adalah penyakit menular pada hewan yang disebabkan oleh tripanosoma evansi dimana dia memiliki bentuk seperti kumparan dengan salah satu ujung yang lancip dan ujung lainnya sedikit tumpul, berukuran panjang 19,4-35.3 um. Ditengah tubuhnya terdapat inti yang bulat dan sedikit oval. Didekat ujung tumpul terdapat 2 benda yaitu *blepharoplast* atau benda basal dan benda para basal. Kedua benda tersebut dihubungkan dengan serabut halus sehingga terjadi bentuk yang sering disebut *kinetoplas*. Dari benda basal muncul serabut yang disebut *axonema* yang melanjutkan diri sebagai benang cambuk (flagellum) benang cambuk ini terikat dengan tubuh oleh selaput beralun (membrana undulans) dan akan melanjutkan diri kedepan sebagai flagellum bebas, Sehingga penularan penyakit ini terjadi karena adanya gigitan lalat dan keluarga *tabanidae*, *musidae*, *stomoxys*. dan *nyamuk*.

G. Referensi

- Arjatmo Tjokronegoro. 2010. Trypanosoma evansi Detection and Vector Identification in Central Java and Indonesia. In: Isnansetyo A., Nuringtyas T. (eds) Proceeding of the 1st International Conference on Tropical Agriculture. Springer International Publishing. Online ISBN 978-3- 319-60363-6.
- Dorland, Newman. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland Edisi 29*. Jakarta: EGC.
- Jason and Frances. 2010. *The Microflow Cytometer*. Singapore : Pan Stanford Publishing .
- Maskoeri, Jasin. 2008. *Ilmu Alamiah Dasar*. Jakarta : PT. Raja Grafindo Persada.
- Sandjaja, Bernadus . 2007 . Patogenesis *Tripanosoma evansi* pada Kerbau yang Diberi Ransum Bermutu Tinggi dan Rendah. *JITV 2 (2): 137-144*.
- Suntoro, S.H. 1983. *Metode Pewarnaan*. Jakarta: Bharata Karya Aksara.

Padoli, 2016. *Mikrobiologi dan Parasitologi Keperawatan*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Pengujian *Packed Cell Volume* (PVC) dan Total Plasma Protein (TPP) pada Darah Sapi

8

Bau Nurul Annisa S.

A. Latar Belakang

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brasilia. Keanekaragaman hayati itu bisa saja menjadi potensi bagi kesejahteraan hidup masyarakatnya jika digali, diketahui potensinya, dan dikembangkan. Namun juga bisa jadi keanekaragaman hayati itu tidak memiliki arti apa-apa jika tidak dikaji potensinya, pemanfaatannya, dan sekaligus pelestariannya. Tuhan tidak menjadikan sesuatu apapun di muka bumi ini dengan sia-sia, semua pasti memiliki manfaat masing-masing (Husamah dkk, 2017).

Hewan, sebagaimana makhluk hidup lainnya, menempati lokasi bersama dengan makhluk hidup lainnya dan makhluk tak hidup yang bersama-sama membentuk lingkungan hidup hewan. Antara makhluk hidup dan lingkungannya saling berinteraksi satu sama lain dalam suatu system yang kompleks. Sistem yang terbentuk karena interaksi makhluk hidup dengan lingkungnya disebut ekosistem, sedangkan ilmu yang mempelajari ekosistem disebut ekologi (Sumarto dan Koneri, 2016).

Kesehatan hewan sangatlah penting untuk diketahui, apalagi jika berhubungan dengan hewan yang sering dikonsumsi, misalnya sapi, ayam, dan sebagainya. sehingga kita perlu melakukan pemeriksaan kesehatan pada hewan-hewan tersebut. Adapun salah satu pemeriksaan kesehatan hewan adalah pemeriksaan hematologi. Pemeriksaan hematologi yang digunakan untuk mengukur derajat kesehatan hewan adalah sel darah merah, profil kadar hemoglobin, packed cell volume (PCV) dan sel darah putih (Gerardo *et al*, 2009). Menurut Muhri *et al* (2007) untuk mengintepretasikan hasil pemeriksaan laboratorium dibutuhkan pengetahuan fisiologis darah dan parameter acuan darah normal .

Untuk di Balai Veteriner Maros sendiri, kami melakukan uji PCV dan TPP. Adapun juga uji diferensial leukosit yang dimana uji ini dilakukan di bawah mikroskop. Pengujian-pengujian tersebut dilakukan di Laboratorium Patologi, Balai Besar Veteriner Maros. Hasil yang diperoleh dapat diketahui apakah hewan yang

diperiksa tergolong sehat atau tidak. Adapun cara yang dilakukan adalah dengan membandingkan hasil uji dengan nilai standar yang telah ada. Nilai-nilai standar tersebut berbeda-beda pada tiap-tiap jenis hewan. Hasil tersebut akan sangat bermanfaat dalam mengarahkan diagnose klinis untuk hewan tersebut. Sehingga diharapkan dari diagnose tersebut, kita dapat mengetahui dan segera mencegah atau mengobati hewan-hewan yang diduga memiliki masalah kesehatan.

B. Tujuan

Kerja Praktek yang telah dilakukan di Balai Besar Veteriner Maros bertujuan untuk memberikan pengalaman kerja bagi mahasiswa berupa berbagai Teknik pengujian di beberapa laboratorium Balai Besar Veteriner Maros. Pengalaman kerja ini diharapkan dapat menjadi latihan bagi para mahasiswa untuk bekerja secara professional sesuai bidang yang ditekuni. Salah satu pengujian kesehatan hewan yang pernah kami lakukan di Laboratorium Patologi yaitu pengujian Packed Cell Volume (PCV) dan Total Protein Plasma (TPP) pada sampel darah. Setelah kegiatan ini, mahasiswa dapat melakukan Teknik pengujian PCV dan TPP pada sampel darah khususnya 20 sampel darah sapi.

C. Tinjauan Pustaka

1. Sel Darah

Darah merupakan suatu kendaraan untuk transport masal jarak jauh dalam tubuh untuk berbagai bahan antara sel dan lingkungan eksternal antara sel-sel itu sendiri. Darah terdiri dari cairan kompleks plasma tempat elemen selular diantaranya eritrosit, leukosit, dan trombosit. Eritrosit atau sel darah merah pada hakikatnya adalah kantung hemoglobin terbungkus membrane plasma yang mengangkut oksigen dalam darah. Leukosit atau sel darah putih, merupakan satuan pertahanan system imun yang diangkut di dalam darah tempat cedera atau invasi mikroorganisme penyebab penyakit. Trombosit sendiri penting dalam homeostasis, penghentian pendarahan dari pembuluh yang cedera. Jika darah mengalami gangguan, maka segala proses metabolisme tubuh akan terganggu pula (Fitriyadi dan Sutikno, 2006).

Darah yang mengalir dalam tubuh mempunyai kemampuan dalam mempresentasikan suatu penyakit berdasarkan jenis sel darahnya, sehingga dapat dilakukan proses pengenalan penyakit darah dengan bantuan citra darah. Hal ini didukung dengan teknologi image processing yang mampu menangkap

citra darah. Citra darah tersebut akan melalui proses pengolahan data, yang dimana data tersebut dapat dianalisa dalam mendeteksi suatu penyakit (Andriyanto, 2011).

Darah memiliki peranan yang sangat kompleks untuk terjadinya proses fisiologis yang baik sehingga produktivitas ternak dapat optimal. Fungsi darah antara lain penyerapan dan transportasi nutrisi dari saluran pencernaan ke jaringan, transportasi oksigen ke dan dari jaringan, mengangkut sisa metabolisme, transportasi hormon yang dihasilkan oleh kelenjar endokrin dan pengaturan kandungan air pada jaringan tubuh. Selain itu darah juga berperan penting dalam menjaga temperatur tubuh (Sturkie, 1976). Peran utama darah adalah sebagai media transportasi untuk membawa oksigen dari paru-paru ke sel jaringan tubuh dan CO₂ ke paru-paru, membawa bahan makanan dari usus ke sel-sel tubuh, mengangkut zat-zat tak terpakai sebagai hasil metabolisme untuk dikeluarkan dari tubuh, mentransfer enzim-enzim dan hormon, mengatur suhu tubuh dan keseimbangan cairan asam-basa (Suwandi, 2002).

Parameter	Domba	Kambing	Kerbau	Sapi
Eritrosit x10 ⁶ /mm ³	8,0-16,0	8,0-18,0	5,13	5,0-10
Hematokrit	24,0-50,0	19-38	36	24-26
Hemoglobin (g/dl)	8-16	8-14	10,34	18-5

Tabel 8.1 . Gambaran darah ternak ruminansia.

Sumber :Sharma, et al (1973) (kerbau), Schalm, et al (1975) (domba, kambing, sapi) dalam (Suwandi, 2002).

2. Packed Cell Volume (PCV)

Hematokrit atau PCV adalah persentase sel darah merah dalam 100 ml darah. Nilai hematokrit yang jauh dari normal dapat menyebabkan anemia akibat dari banyaknya cairan pada total darah. Penurunan nilai hematokrit dapat terjadi akibat menurunnya derajat aktivitas tubuh (Guyton dan Hall, 2006). Nilai hematokrit yang kecil bisa disebabkan karena suhu lingkungan yang tinggi, memperlihatkan frekuensi pernafasan yang meningkat. Peningkatan frekuensi adalah mekanisme untuk mengeluarkan panas tubuh. Dampak dari kejadian tersebut adalah upaya untuk meningkatkan konsumsi air minumnya. Peningkatan konsumsi air minum (disertai dengan penurunan konsumsi pakan)

iniilah yang menyebabkan nilai hematokritnya menurun (Ulupi dan Ihwantoro, 2014). Peningkatan nilai hematokrit juga dapat mengindikasikan bahwa adanya gangguan sirkulasi darah dan dehidrasi. Pada kondisi dehidrasi perbandingan sel darah merah dengan plasma darah berada diatas normal. Banyak penyebab yang dapat membuat tubuh mengalami kondisi dehidrasi seperti aktivitas berlebih, kurang mengkonsumsi cairan, muntah dan diare (Narendra, 2007). Chotiah (2010) menyatakan bahwa dehidrasi juga dapat disebabkan oleh nutrisi yang tidak cukup dan lingkungan yang tidak memadai. Adapun penurunan nilai hematocrit dapat dijumpai pada kondisi anemia atau akibat kekurangan sel darah (Wientarsih *et al*, 2013). Penurunan nilai hematocrit disebabkan oleh kerusakan eritrosit, malnutrisi, penurunan produksi eritrosit, atau dipengaruhi oleh jumlah dan ukuran eritrosit (Wardhana *et al*, 2001).

3. Total Protein Plasma (TPP)

Plasma darah adalah campuran protein anion kation yang sangat kompleks. Plasma protein terdiri dari beberapa kelompok. Kelompok pertama yaitu kelompok protein yang dapat menyediakan nutrisi sel-sel, kelompok kedua yaitu kelompok protein yang terlibat dalam transport bahan kimia lainnya termasuk hormon, mineral, dan intermediet dan yang terakhir adalah kelompok protein yang berkaitan dengan pertahanan terhadap penyakit. Plasma didapat dengan mencampurkan darah segar dengan antikoagulan dan disentrifugasi, maka supernatannya adalah plasma. Protein plasma yang telah diidentifikasi dan mempunyai jumlah 70% dari darah adalah albumin, globulin, dan fibrinogen. Jumlah plasma darah yaitu 55--70% total darah. Hati mensintesa dan melepaskan lebih dari 90% protein plasma. Total protein normal ternak ruminansia berkisar 4,5--7,2 g/dl (Wahyuni *et al*, 2011). Total protein merupakan kumpulan unsur-unsur kimia darah di dalam plasma atau pun serum. Penting untuk mengetahui fraksi protein dalam tubuh meningkat atau menurun karena berhubungan dengan status kesehatan tubuh tersebut sehat atau sedang mengalami suatu penyakit. Menurut McDowell (1972), ternak di daerah tropis sering mengalami kadar hemoglobin yang rendah, kemungkinan disebabkan karena kekurangan mineral, adanya parasit dan juga terkena stres yang disebabkan oleh panas. Selain hemoglobin, gambaran total protein plasma (TPP) pada ternak juga sangat berpengaruh terhadap produktivitas ternak.

Jumlah TPP yang terkandung di dalam darah mempengaruhi sistem imun tubuh ternak, yaitu apabila suhu tubuh ternak meningkat maka jumlah TPP menurun yang akan mengakibatkan stres pada ternak. Pada saat hewan dalam keadaan stress panas, semakin tinggi derajat dehidrasi maka semakin meningkat kadar TPP. Stress panas merupakan salah satu bentuk stress yang dialami oleh ternak. saat stress, ternak akan kehilangan cairan tubuhnya. Stress panas menyebabkan rangsangan pada hipotalamus mengaktifkan thermoreseptor menghasilkan hormone epinephrine. Pengaktifan ini menjadikan tingkah laku pengeluaran CO₂ dan uap air serta tingkah laku urinasi. Uap air dan urin mengandung mineral berupa Ca, Na, Cl, K, dan Mg. mineral yang keluar ini akan mempengaruhi retensi mineral di ginjal, di glomerulus, albumin dan globulin tidak dapat masuk akibat berat molekulnya sehingga albumin dan globulin ini tinggi untuk menjadikan tekanan osmotik darah tetap seimbang. Peningkatan kadar TPP pada keadaan dehidrasi karena terjadi hemokonsentrasi. Ketika tubuh mengalami dehidrasi, sumber utama cairan tubuh adalah plasma darah. Tubuh akan mengambil plasma darah untuk memulihkan kondisi dehidrasi (Roslizawaty et al, 2015).

D. Metode Kerja

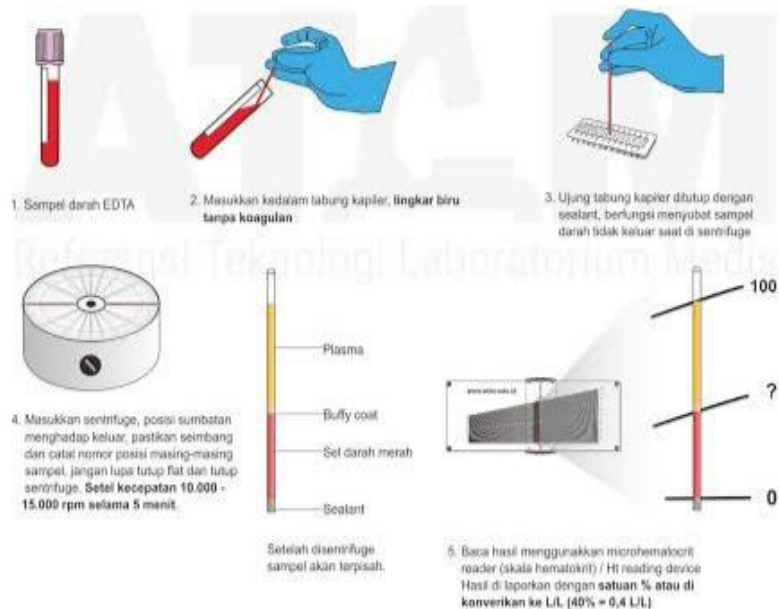
1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pengujian ini adalah tabung kapiler, lab roller mixer, refractometer, centrifuge hematocrit, dan skala hematocrit (*microcapillary reader*). Adapun bahan yang digunakan dalam pengujian ini adalah 20 sampel darah sapi, plastisin, dan tisu.

2. Prosedur Kerja

1. Pengujian *Packed Cell Volume* (PCV)

Pengukuran kadar hematokrit atau PCV dilakukan dengan mengisi kapiler hematokrit dengan darah sampai kira-kira $\frac{3}{4}$ dari panjang tabung, salah satu ujung tabung ditutup dengan kristosit, kemudian disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 16.000 rpm. Nilai PCV diperoleh dengan membaca volume sedimentasi menggunakan *microcapillary reader* yang dinyatakan dalam persen (Mulyani, 2012).



Gambar 8.1. Pengujian *Packed Cell Volume* (PCV)

Sumber : www.atlm-edu.id

2. Pengujian Total Plasma Protein

Konsentrasi protein plasma dihitung dengan menggunakan mikrohematokrit yang diisi darah dan disentrifus dengan kecepatan 16.000 rpm selama 5 menit. Lapisan plasma hematokrit dipatahkan, plasma ditetaskan pada prisma refraktometer Goldberg atau TS meter (Coles dalam Roslizawaty, 2015). Skala protein plasma dapat dilihat dengan mengamati garis yang membatasi wilayah gelap terang pada refraktometer Goldberg dan ditetapkan kadar TPP dalam g/dl (Benjamin dalam Roslizawaty, 2015).



Gambar 8.2. ...

Sumber : <https://m.id.aliexpress.com>
www.ebay.com.au

E. Hasil dan Pembahasan

1. Hasil Pengujian

Sampel	PCV	Keterangan	TPP	Keterangan
1	37,1	Normal	7,1	Normal
2	23	Rendah	7	Normal
3	35	Normal	6,9	Normal
4	34,6	Normal	6,9	Normal
5	33	Normal	7	Tinggi
6	36	Normal	8	Normal
7	38,2	Normal	7	Rendah
8	39	Tinggi	6	Rendah
9	48	Normal	6	Normal
10	37	Normal	7,1	Normal
11	37	Normal	7,2	Normal
12	36	Normal	6,9	Normal
13	38	Normal	6,8	Normal
14	39	Normal	6,8	Normal
15	36	Normal	6,9	Normal
16	35	Normal	7	Normal
17	35,5	Normal	7	Normal
18	37	Normal	7,1	Normal
19	36	Normal	7,1	Normal
20	36	Normal	7	Normal

2. Pembahasan

1. Pengujian Packed Cell Volume (PCV)

Hasil pengujian PCV pada 20 sampel darah sapi dapat diketahui bahwa hampir semua sampel memiliki nilai PCV normal, kecuali pada dua sampel berikut, yaitu sampel nomor 2 dan nomor 9 yang dimana memiliki nilai PCV yang rendah. Nilai standar normal untuk PCV pada sapi adalah 24-36 %. Menurut drh.Fitriah, nilai PCV yang rendah menunjukkan bahwa sampel tersebut memiliki gejala anemia. Adapun juga nilai hematokrit yang jauh dari normal dapat menyebabkan anemia akibat dari banyaknya cairan pada total darah. Penurunan nilai hematokrit dapat terjadi akibat menurunnya derajat aktivitas tubuh (Guyton dan Hall, 2006). Nilai hematokrit yang kecil bisa disebabkan karena suhu lingkungan yang tinggi, memperlihatkan frekuensi

pernafasan yang meningkat. Peningkatan frekuensi adalah mekanisme untuk mengeluarkan panas tubuh. Dampak dari kejadian tersebut adalah upaya untuk meningkatkan konsumsi air minumnya. Peningkatan konsumsi air minum (disertai dengan penurunan konsumsi pakan) inilah yang menyebabkan nilai hematokritnya menurun (Ulupi dan Ihwantoro, 2014). Peningkatan nilai hematokrit juga dapat mengindikasikan bahwa adanya gangguan sirkulasi darah dan dehidrasi. Pada kondisi dehidrasi perbandingan sel darah merah dengan plasma darah berada diatas normal. Banyak penyebab yang dapat membuat tubuh mengalami kondisi dehidrasi seperti aktivitas berlebih, kurang mengkonsumsi cairan, muntah dan diare (Narendra, 2007).

2. Pengujian Total Protein Plasma (TPP)

Dari hasil pengamatan dapat diketahui bahwa dari semua sampel yang normal, terdapat 3 sampel yang berbeda. Yaitu sampel nomor 6 dengan nilai TPP 8, sample nomor 8 dan nomor 9, dengan nilai TPP 6. Menurut drh. Fitriah, nilai standar untuk TPP pada sapi adalah 6,8 – 7,4. Pada sampel nomor 6 dengan nilai TPP 8 mengindikasikan bahwa sampel ini sedang diserang parasite. Hasil ini juga bisa mengindikasikan bahwa sampel ini sedang mengalami dehidrasi (stress panas). Adapun juga nilai TPP yang rendah mengindikasikan bahwa sampel ini sedang terserang penyakit. Menurut McDowell (1972), ternak di daerah tropis sering mengalami kadar hemoglobin yang rendah, kemungkinan disebabkan karena kekurangan mineral, adanya parasit dan juga terkena stres yang disebabkan oleh panas. Selain hemoglobin, gambaran total protein plasma (TPP) pada ternak juga sangat berpengaruh terhadap produktivitas ternak. Jumlah TPP yang terkandung di dalam darah mempengaruhi sistem imun tubuh ternak, yaitu apabila suhu tubuh ternak meningkat maka jumlah TPP menurun yang akan mengakibatkan stres pada ternak. Semakin tinggi derajat dehidrasi semakin meningkat kadar TPP. Peningkatan kadar TPP pada keadaan dehidrasi karena terjadi hemokonsentrasi atau penurunan volume plasma. Ketika tubuh mengalami dehidrasi, sumber utama cairan tubuh adalah plasma darah. Tubuh akan mengambil plasma darah untuk memulihkan kondisi dehidrasi (Roslizawaty et al, 2015).

F. Kesimpulan

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dari 20 sampel darah, terdapat 5 sampel yang abnormal, yaitu 2 sampel pada pengujian PCV, dan 3 sampel pada pengujian TPP. Hasil yang didapatkan pun beragam. Pada pengujian PCV, darah sampel dimasukkan ke dalam tabung kapiler kemudian di sentrifuge. Setelah itu, diukur ketinggian dari suspensi merah di bawah tabung kapiler dengan menggunakan skala hematocrit. Pada pengujian TPP, plasma yang terdapat di bagian atas tabung kapiler, di dorong keluar dengan menggunakan jarum. Plasma tersebut di letakkan di atas refractometer dan kemudian ditekan. Selanjutnya, diamati skalanya melalui lensa refractometer. Adapun juga Nilai standar normal untuk PCV pada sapi adalah 24-36 %. Sedangkan untuk nilai standar TPP pada sapi adalah 6,8–7,4.

G. Referensi

- Andriyanto, Endro. 2011. Pengenalan Penyakit Darah Pada Citra Darah Dengan Menggunakan Logika Fuzzy. *Jurnal JIATIKA*. 5 (2) : 1-7.
- Fitriyadi, Khairil dan Sutikno. 2006. Pengenalan Jenis Golongan Darah Menggunakan Jaringan Syaraf Tiruan *Perceptron*. *Jurnal Masyarakat Informatika*. 7(1) :1-10.
- Guyton, A. C. 1991. *Fisiologis Kedokteran*. Penerjemah A. Dharma. Edisi 3. Jakarta: CV. EGC Buku Kedokteran.
- McDowell, R. E. 1974. *The Environment Versus Man and His Animals*. In: H.H. Cole & M.Ronning (Eds.). San Fransisco : Animal Agriculture. W.H.Freeman and Co.
- Mulyani, Guntari Titik., Yuda Heru Fibrianto, Teguh Budipitojo. 2012. Pengaruh Penangkaran Terhadap Profil Eritrosit Lumba-Lumba Hidung Botol dari Perairan Laut Jawa. *Jurnal Sain Veteriner*. 30 (1) : 51-56.
- Narendra, DW. *Pengaruh Dehidrasi Dengan Pemberian Bisacodyl Terhadap Gambaran Hematokrit Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus)*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Roslizawaty, Sugito, S. Ramadhani, M. Hasan, R. Daud, dan N. Asmilia. 2015. Korelasi Antara Dehidrasi Dengan Total Protein Plasma, Hemoglobin, Dan Packed Cell Volume (Pcv) Pada Kambing Kacang Umur 10-14 Hari. *Jurnal Medika Veterinaria* 9 (1) : 1-4.
- Sturkie, Paul D. 1998. *Avian Physiology*. 5th Edition. New York : Springer Verlag.

- Suwandi. 2002. *Manfaat Pemeriksaan Gambaran Darah Umum Pada Ternak Ruminansia*. Bogor : Balai Penelitian Ternak.
- Ulupi, N dan T. T. Ihwantoro. 2014. Gambaran Darah Ayam Kampung Dan Ayam Petelur Komersial Pada Kandang Terbuka Di Daerah Tropis. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 2 (1) : 219-223.
- Wahyuni, R. S., B. Retno., dan S. Romziah. 2011. Profile Total Protein Dan Glukosa Darah Domba Yang Diberi Starter Bakteri Asam Laktat Dan Yeast Pada Rumput Gajah Dan Jerami Padi. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan*. 4 (1) : 65-70.

A. Latar Belakang

Ketepatan diagnosa suatu penyakit sangat tergantung kepada anamnesa, gejala klinik, pemeriksaan pasca mati serta ketepatan dan kecepatan hasil pemeriksaan laboratorium. Ketepatan dan kecepatan pemeriksaan laboratorium (virologi, parasitologi, bakteriologi, mycologi, histopatologi atau toksikologi), sangat ditentukan oleh kualitas spesimen (sampel) yang diperiksa. Spesimen (sampel) adalah benda apa saja yang dianggap tercemar oleh suatu penyakit hewan atau mikroba penyebab penyakit hewan, termasuk bagian-bagian dari tubuh hewan ataupun berupa hewannya sendiri yang mati, sakit atau tersangka sakit baik diberi atau tanpa zat pengawet untuk diperiksa di laboratorium. Kualitas spesimen sangat ditentukan oleh ketepatan memilih spesimen yang diambil dari hewan yang mati, sakit atau tersangka sakit dan ketepatan perlakuan terhadap spesimen tersebut. Perlakuan spesimen diantaranya pengawetan, penyimpanan dan pengiriman yang tidak menyebabkan kerusakan, sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan masing-masing laboratorium.

Euthanasia adalah tindakan membunuh hewan (mahluk hidup) dengan maksud mengurangi penderitaannya. Pada hewan biasanya dilakukan pada hewan tua, penyakit yang sulit disembuhkan (*infausta*) atau untuk tujuan diagnosa penyakit agar populasi yang lain dapat terselamatkan. Nekropsi (= autopsi = seksi = obduksi = bedah bangkai = bedah mayat) adalah kegiatan membedah kadaver hewan untuk menentukan penyebab hewan tersebut sakit atau mati. Orang yang melakukan nekropsi atau seksi disebutkan sekan. Penentuan penyebab sakit atau matinya hewan tersebut (diagnosa penyakit) dapat dilakukan dengan dukungan dari pemeriksaan laboratorium mikrobiologi (bakteriologi, virologi dan mikologi), parasitologi, toksikologi dan histopatologi.

Nekropsi dibedakan atas 2 yaitu :

1. Nekropsi lengkap : semua organ/ jaringan dibuka dan diperiksa
2. Nekropsi tidak lengkap : tidak semua organ/ jaringan dibuka, karena tujuan tertentu seperti penyakit-penyakit yang sangat kontagius (misalnya

hewan yang diduga anthrax) dan maksud lain (untuk penelitian atau diagnosanya sudah mengarah penyakit tertentu).

Pemeriksaan kesehatan ternak pada ayam adalah untuk mengetahui cara pemeriksaan ayam dengan melakukan nekropsi sehingga dapat melihat dan mengetahui kelainan organ serta penyakit yang menyerang ayam tersebut karena sifat penyakit pada unggas umumnya adalah penyakit yang menular.

B. Tujuan

Praktik ini bertujuan untuk mengetahui tahapan nekropsi pada unggas

C. Tinjauan Pustaka

Pembedahan bangkai mengeluarkan organ-organ yang dihindangi virus tertentu. Pada bedah bangkai, jika menggunakan ayam mati (bangkai ayam) sebaiknya tidak menggunakan ayam yang mati lebih dari 6 jam, karena pada ayam tersebut terdapat mikroorganisme yang mendeposisi tubuh dan ada proses autolisis yaitu penghancuran sendiri organ-organ tubuh dan terjadi perubahan patologi anatomi. Ada beberapa hal yang menjadi perhatian supaya hasil pemeriksaan menjadi akurat, antara lain jenis penyakit, kondisi pasien, umur bangkai, jumlah sampel, dan tempat pelaksanaan. Selain itu, penilaian bedah bangkai berdasarkan perubahan-perubahan pada organ atau jaringan yang diperiksa, yaitu ukuran organ pada ayam penderita, warna pada organ yang diperiksa, tepi organ, bidang sayatan, dan konsistensi (Bhakti, dkk 2013). Prosedur yang harus dilaksanakan bila akan melakukan bedah bangkai ada 3 yaitu : 1. Melakukan anamnesisi selengkapny, untuk memperoleh gambaran perjalanan penyakit 2. Melakukan pemeriksaan klinis, untuk mendapatkan gambaran penyakit yang objektif 3. Mempersiapkan sampel-sampel untuk pemeriksaan lebih lanjut, jika hasil pemeriksaan belum meyakinkan. (Eshetu, dkk 2004).

Ukuran organ pada ayam penderita, jika membesar disebut hipertropi, jika mengecil disebut atropi, dan jika tumbuh ganda disebut hiperplasia. Sedangkan apabila berwarna kemerahan menunjukkan adanya pendarahan, organ berwarna pucat menunjukkan kurangnya nutrisi, warna kebiruan menunjukkan kurangnya suplai oksigen, keracunan jaringan. Tepi organ yang tumpul menunjukkan organ telah membesar dari ukuran normal. Bidang sayatan berlemak berminyak menunjukkan adanya akumulasi lemak dalam jaringan, berair menunjukkan adanya akumulasi air dalam jaringan, dan campuran keduanya menunjukkan adanya gangguan organik oleh

metabolisme penyakit. Konsistensi yang keras/rapuh menunjukan adanya nekrosis/kematian jaringan pada organ dan pada konsistensi lunak organ telah terakumulasi dengan eksudat (Mas, dkk 2012).

D. Metode Kerja

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada praktek kerja kali ini yaitu pisau, gunting (Gunting Runcing, Gunting Tumpul dan Gunting Tulang), pinset dan skalpel, spoit untuk mengambil darah (khususnya untuk pemeriksa darah ayam), kantong plastik untuk membungkus organ spesimen, desinfektan seperti Lisol atau PK untuk membasahi ternak ayamnya, sabun, wadah spesimen seperti pot yang ada bahan pengawet formalin 10%, kertas label untuk memberi tanda pada masing-masing spesimen pot, ember sedangkan bahan yang dibutuhkan yaitu hewan yang diduga sakit contoh ayam ras petelur dengan ciri beberapa minggu tidak bertelur atau berproduksi dan Air

2. Prosedur Kerja

- 1) Bulu dibasahi dengan larutan desinfektan untuk membatasi penyebaran bulu saat dilakukannya pembedahan.



- 2) Burung di tempatkan dengan posisi terlentang dan kakinya menghadap ke arah anda.
- 3) Kedua kaki dipegang dan tekan kemudian jauhkan dari pelvis untuk melonggarkan tulang sendi



- 4) Bulu-bulu diberdirikan di atas abdomen dan potong dengan gunting atau pisau.



- 5) Kulit di hilangkan penutup abdomen dan dada (dari leher sampai kloaka).



- 6) Otot dada di periksa terhadap penurunan massa otot atau kepuatan (anemia), atau memar.



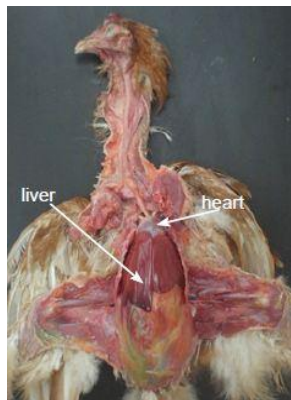
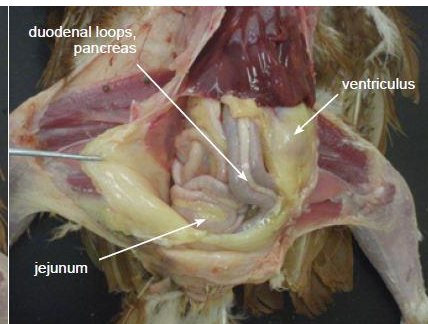
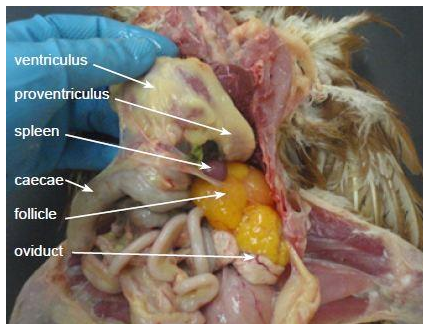
- 7) Otot abdominal di iris dan di potong hingga mencapai bagian rusuk tepat pada sisi tulang.



- 8) Tulang dipegang dan ditarik dekat dengan abdomen dan menarik ke atas untuk membuka organ internal dan rongga dada.



- 9) Hati diperiksa dan terhadap perubahan pada ukuran atau perubahan warna, noda-noda putih atau kuning, abses atau tumor.



- 10) Kantung udara diperiksa terhadap peningkatan ketebalan dan perubahan warna menjadi gelap/suram. Permukaan kantung udara yang normal terlihat seperti gelembung sabun atau lapisan kaca yang tipis yang bersih.



- 11) Traktus gastrointestinal (GI) dipotong diantara oesophagus dan proventrikulus.
- 12) Proventrikulus dihilangkan, ventrikulus (gizzard), usus kecil, usus besar, caeca, dan potong pada kloaka. Pankreas juga akan dihilangkan. Pankreas agak merah muda menggantung disekitar duodenum (bagian dari usus kecil).



- 13) Segala jenis perlekatan yang terdapat pada usus kecil dipotong dan kesampingkan terlebih dahulu organ gastrointestinal (GI). Pada akhir nekropsi, organ-organ ini dapat di buka dan diperiksa terhadap parasit internal.

- 14) Hati dan limpa dihilangkan. Perubahan warna hijau dari hati dekat kantung empedu normal ditemukan. Limpa kemerah-merahan mengelilingi organ yang berlokasi pada pertemuan proventrikulus dan gizzard.



- 15) Organ-organ yang berlokasi dekat tulang belakang karkas diamati.



- 16) Ginjal yang merupakan organ dengan bentuknya yang memanjang, berlobus, dan melekat pada tulang belakang burung diperiksa. Dan ovarium/oviduct bagian kiri (atau sepasang testis jika burung berkelamin jantan) yang terletak tepat di atas ginjal.
- 17) Paru-paru yang letaknya melekat pada tulang rusuk, dapat dengan lembut dikeluarkan dari rongga rusuk atau pemeriksaan lebih lanjut.
- 18) Keadaan permukaan organ jantung juga harus diperiksa untuk melihat kemungkinan terjadinya perubahan warna menjadi lebih suram ataupun terjadinya penebalan organ yang dapat mengacu pada terjadinya perikarditis. Juga perlu diperhatikan adanya cairan berlebih yang mungkin terdapat di antara jantung dan pericardium (membrane yang melapisi jantung).
- 19) Posisi burung dibalikkan hingga menghadap anda lalu potong sudut paruh burung.



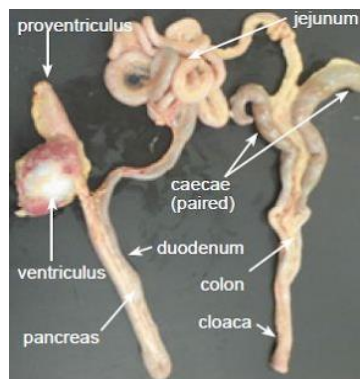
- 20) Daerah pemotongan diluaskan hingga menembus tenggorokan dan akhirnya turun hingga mencapai jantung.



- 21) Permukaan bagian dalam oesophagus diperiksa dan lalu ambil. Lihat dengan teliti apabila masih terdapat sisa makanan atau parasit (cacing). Apabila permukaan bagian dalam oesophagus terlihat menyerupai handuk, hal itu kemungkinan merupakan indikasi adanya infeksi jamur yang disebut “crop mycosis”.



- 22) Larynx, trachea, dan syrinx dipotong. Pastikan permukaan bagian dalamnya bebas dari mucus yang berlebihan.
- 23) Burung dibalikkan seperti posisi semula yaitu kaki burung menghadap ke arah anda.
- 24) Nervus sciatic yang terletak bagian dalam paha atas (terletak tepat dibawah otot) haruslah disingkap dengan kedua kaki. Kedua nervus ini haruslah memiliki ukuran yang sama tanpa adanya pembengkakan. Apabila terjadi pembesaran pada nervus ini, dapat merupakan indikasi terjadinya penyakit marek's.
- 25) Dengan pisau yang tajam, potong persendian lutut dan tumit untuk melihat adanya nanah/pus berwarna kuning/putih, darah ataupun adanya cairan berlebih. Persendian seharusnya terlihat megkilap dan putih dengan hanya sedikit cairan bening dan lengket di dalamnya.
- 26) Untuk menemukan bursa fabricius, potong kloaka dan lihat adanya bentukan seperti anggur yang mengarah pada bagian pantat unggas. Semakin tua usia burung, ukuran bursa akan semakin kecil. Ukuran bursa akan semakin berkurang sejalan dengan tercapainya dewasa kelamin burung tersebut.
- 27) Potong bursa menjadi 2 bagian, dan anda akan menemukan kerutan-kerutan tersusun paralel satu sama lain pada permukaan bursa dan akan terlihat warna cream. Catat apabila terdapat perubahan warna ataupun terjadi kebengkakan.
- 28) Sekarang kembali pada traktus gastrointestinal, dan mulai dengan proventrikulus lalu dipotong menurut panjangnya. Dinding dalam organ tidaklah rata dan merupakan hal yang normal pada setiap glandula pencernaan.



29) Potong ventrikulus, intestinal, dan caeca. Perhatikan tampilan dinding mukosa bagian dalam dan keberadaan parasit (cacing), darah, ataupun terjadinya penebalan atau perubahan warna permukaan.

30) Potong rongga kepala dan keuarkan otaknya



31) Tempatkan karkas dengan baik dan desinfeksi peralatan dan tempat dilakukannya nekropsi.

Berikut ini merupakan skema proses nekropsi unggas.



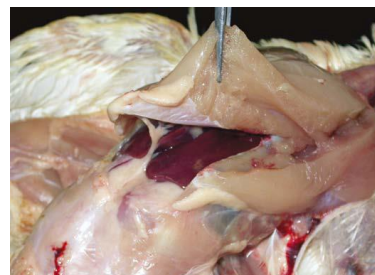
1. Potongan lateral paruh untuk mengangkat organ rongga selom.

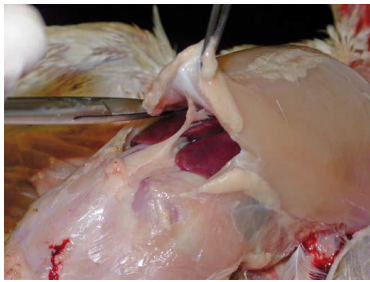
2. Penampilan rongga mulut setelah memotong tulang hyoid di kedua sisi paruh.



3. Menyayat di langit-langit lunak untuk memisahkan kerongkongan.

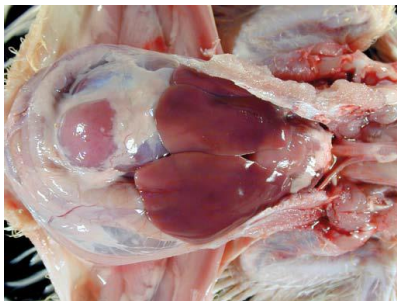
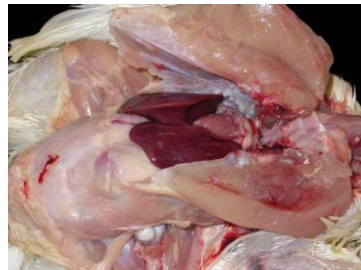
4. Menyayat di daerah di bawah payudara untuk membuka rongga selom.





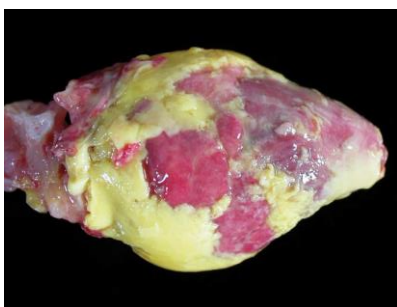
5. Memotong tulang rusuk di kedua sisi untuk membuka rongga selom.

6. Pembukaan total rongga coelomic, memotong klavikula dan coracoids.



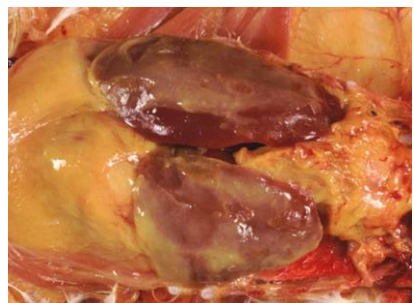
7. Distribusi organ-organ dalam rongga selom.

8. Penampilan kantung udara pada burung yang sehat.



9. Perikarditis fibrinosa menunjukkan adanya eksudat fibrinosa pada permukaan perikardial.

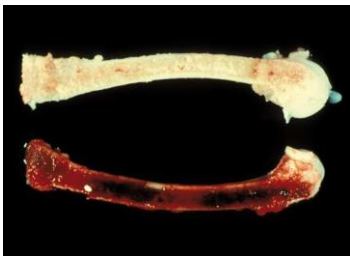
10. Poliserositis fibrin dengan eksudat fibrin pada membran serosa dari rongga coelomic.





1. Limfoma miokard pada seekor burung yang dipengaruhi oleh bentuk akut atau visceral (panah) dari penyakit Marek.

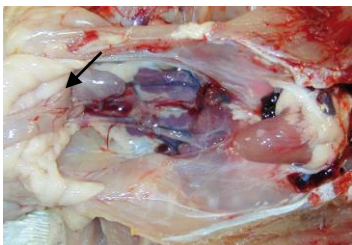
12. Atrofi thymic ditandai pada burung yang terkena anemia infeksi burung.



13. Sumsum tulang paha secara signifikan pucat ada anemia infeksi burung.

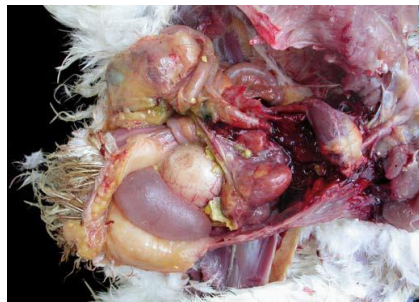


14. Splenomegali pada burung yang terkena colisepticaemia.



15. Saluran telur kanan yang persisten pada seekor burung (panah). Kista dengan cairan bening dapat dilihat di daerah sebelah kanan di kloaka.

16. Rongga coelomic seekor ayam berumur 40 minggu dengan saluran telur kanan yang persisten (panah). Divertikulum berisi cairan di daerah caudal juga dapat dilihat.





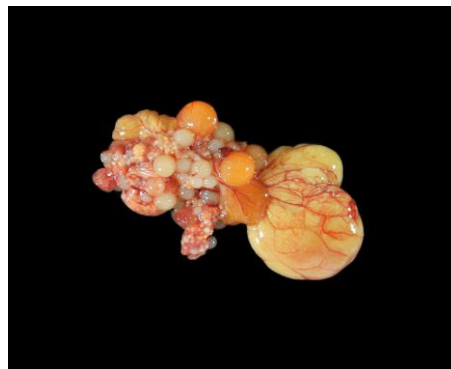
17. Saluran telur kanan persisten dan saluran telur kiri fungsional.

18. Saluran telur hipoplastik tersumbat di daerah caudal.



19. Hipoplasia saluran telur. Bagian atas gambar menunjukkan normal saluran telur, sedangkan di bawahnya adalah saluran telur yang lebih pendek. Di sini tidak mungkin membedakan daerah yang berbeda.

20. Regresi ovarium. Ovarium yang diperlihatkan sebenarnya tidak memiliki folikel kuning besar yang dekat dengan ovulasi, tetapi sebaliknya ia memiliki beberapa folikel atretik.



21. Indung telur fungsional ayam berusia 35 minggu. Enam folikel kuning besar terlihat di samping satu folikel atretik.

E. Hasil dan Pembahasan

1. Pemeriksaan Permukaan Kulit Ayam

Berdasarkan hasil praktikum bahwa permukaan kulit ayam dalam kondisi mulus tidak terdapat koreng, berwarna cerah dan tidak ada memar. Terdapat lendir pada bagian rongga hidung. Pemeriksaan permukaan kulit ayam bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya penyakit yang diderita oleh ayam tersebut,

karena salah satu ciri ayam broiler yang sehat adalah mempunyai kulit licin dan tidak terdapat luka atau memar. Hal ini sesuai dengan pendapat Soedarmono (1960) yang menyatakan bahwa ciri-ciri ayam broiler yang bagus adalah daging lunak, serat baik, berkulit licin tidak terdapat luka atau memar. Adanya mukosa pada rongga hidung merupakan ciri-ciri penyakit Swollen Head Syndrome (SHS).

2. Pemeriksaan Kondisi Warna dan Jaringan dibawah Kulit

Berdasarkan hasil praktikum bahwa pemeriksaan kondisi warna dan jaringan bawah kulit menunjukkan hasil jaringan daging bersih dan berwarna cerah normal. Daging ayam sehat berwarna cerah putih kekuningan. Jaringan sub kutan juga berwarna bersih tidak terdapat bercak-bercak. Ini menandakan ayam sedang tidak terserang penyakit. Menurut Soedarmono (1960) bahwa salah satu ciri ayam terkena penyakit AI (Avian Influenza) yaitu terdapat ptekhiae subkutan pada kaki dan paha.

3. Pemeriksaan Semua yang Nampak setelah Otot Dada dan Perut di buka

Berdasarkan hasil praktikum bahwa bahwa isi rongga dada dan rongga perut bersih, tidak terdapat gumpalan lemak, kantung udara bersih tidak berdarah, jantung sehat berwarna merah muda. Hal ini menandakan bahwa ayam tersebut tidak sakit. Ciri-ciri ayam sakit adalah organ hati, ginjal, jantung, dan limpa bengkak, warna merah kehitaman, bintik-bintik hemoragi jelas terlihat pada mukosa duodenum, hati, ginjal, jantung, paru-paru, dan limpa.

4. Pemeriksaan Saluran Pencernaan

Berdasarkan hasil praktikum bahwa dinding saluran pencernaan tidak terdapat kelainan, tidak kotor. Isi dalam saluran pencernaan normal, tidak terdapat cacing. Dalam manajemen pemeliharaan ayam tersebut benar sehingga ayam tidak terkena cacing. Hal ini sesuai dengan pendapat Soedarmono (1960) menyatakan bahwa penyebab ayam cacingan dikarenakan manajemen pemeliharanya yang buruk. Ciri ayam yang terkena cacing adalah mendadak lesu, diare, radang usus disertai diare yang meluas jika terinfeksi berat, sehingga produksi menurun dibawah rata-rata, termasuk berat badan, laju pertumbuhan turun, produksi daging maupun telur.

5. Pemeriksaan Hati

Berdasarkan hasil praktikum bahwa hati memiliki ukuran normal, berwarna merah kecoklatan, konsistensi kenyal dan terdapat kantong empedu. Ini meandakan hati dalam kondisi baik. Hati berfungsi untuk memproduksi empedu. Hal ini sesuai dengan pendapat Soedarmono (1960) yang menyatakan bahwa hati yang tidak memiliki kelainan berwarna coklat kemerahan yang dilengkapi kantong empedu dan konsistensi kenyal. Fungsi utama hati dalam pencernaan dan absorpsi adalah produksi empedu.

6. Pemeriksaan Jantung

Berdasarkan hasil praktikum bahwa jantung berwarna merah, tidak terdapat bintik-bintik pada selaput jantung dan memiliki konsistensi kenyal, yang menandakan jantung dalam kondisi normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Soedarmono (1960) bahwa ayam dalam kondisi normal jantung berwarna merah muda. Jantung ayam memiliki empat ruang yaitu dua atrium dan dua ventrikel.

7. Pemeriksaan Ginjal

Berdasarkan hasil praktikum bahwa ginjal ayam berukuran kecil dan berwarna merah pucat. Hal ini sesuai dengan pendapat Soedarmono (1960) yang menyatakan sistem ekskresi pada unggas terdiri dari dua buah ginjal yang bentuknya relatif besar memanjang, berlokasi di belakang paru-paru dan menempel pada tulang punggung. Ginjal berfungsi pula sebagai pengatur keseimbangan asam basa dan keseimbangan osmosis bagi cairan tubuh.

8. Pemeriksaan Pankreas

Berdasarkan hasil praktikum bahwa pankreas pada unggas berwarna putih kekuningan, berukuran normal dan tidak terdapat kelainan. Pankreas merupakan organ pencernaan tambahan yang berfungsi sebagai kelenjar endokrin maupun kelenjar eksokrin dan terletak di antara usus halus. Hal ini sesuai dengan pendapat Soedarmono (1960) yang menyatakan pankreas terletak diantara duodenal loop pada usus halus dan merupakan suatu kelenjar yang berfungsi sebagai kelenjar endokrin maupun kelenjar eksokrin. Pankreas mempunyai dua fungsi yang semuanya berhubungan dengan penggunaan energi, yaitu eksokrin dan endokrin.

9. Pemeriksaan Trachea

Berdasarkan hasil praktikum bahwa trakea ayam berwarna putih, tidak terdapat isi. Trakea ayam menunjukkan bahwa ayam dalam kondisi sehat.

Trakea merupakan saluran pernapasan yang memanjang dari pangkal rongga mulut sampai dengan rongga dada.

10. Pemeriksaan Paru – Paru

Berdasarkan hasil praktikum bahwa paru-paru berwarna merah, memiliki konsistensi kenyal, terdapat O₂ saat melakukan uji apung yang artinya pernafasan ayam masih baik. Namun terdapat bintik hitam di paru-paru ayam. Adanya bintik hitam pada paru-paru diindikasikan ayam tersebut terserang penyakit CRD (Coryza dan Chronic Respiratory Disease). Hal ini sesuai dengan pendapat Soedarmono (1960) yang menyatakan bahwa anak ayam yang terserang CRD akan menunjukkan gejala berupa tubuh lemah, sayap terkulai, mengantuk dan diare berwarna seperti tanah. Bila dilakukan nekropsi maka kantung udara dan paru-paru akan menunjukkan warna keruh berupa bintik-bintik hitam.

11. Pemeriksaan Syaraf

Berdasarkan hasil praktikum diketahui bahwa syaraf berwarna putih serta ukuran normal yang artinya syaraf perasa pada ayam masih berfungsi normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Soedarmono (1960) yang menyatakan bahwa syaraf ayam yang masih normal memiliki warna putih yang menunjukkan bahwa ayam tersebut memiliki syaraf perasa yang masih baik.

F. Kesimpulan

Berdasarkan hasil praktikum bahwa saat melakukan nekropsi ayam dalam kondisi sehat tidak terdapat penyakit. Saluran pencernaan ayam bersih, normal. Namun pada bagian paru-paru terdapat bintik hitam. Nekropsi bertujuan untuk mengetahui jenis penyakit yang menyerang unggas.

G. Referensi

- Afrianti, M., Bambang D. dan Bhakti E. S. 2013. Perubahan Warna, Profil Protein, Dan Mutu Organoleptik Daging Ayam Broiler Setelah Direndam Dengan Ekstrak Daun Senduduk. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 2 (3) : 116-120.
- Ashenafi H, Eshetu Y. 2004. Study On Gastrointestinal Helminths Of Local Chickens In Central Ethiopia. *Revue Med Vet* 155(10): 504-507.
- Damayanti, Y. Ida B. O. W. dan Mas D. R. 2012. Evaluasi Penyakit Virus Pada Kadaver Broiler Berdasarkan Pengamatan Patologi Anatomi Di Rumah Pemotongan Unggas. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus* 1(3): 417 - 427.

Diagnosa Virus Avian Influenza pada Ayam Buras melalui Pengujian HA (*Haemaagglutination*)

10

Nur Awalia dan Aryati Arief

A. Latar Belakang

Virus berasal dari bahasa Latin yaitu *virion* yang berarti racun. Virus adalah parasit berukuran mikroskopik yang menginfeksi sel organisme biologis. Virus hanya dapat bereproduksi di dalam materi hidup dengan memanfaatkan sel makhluk hidup. Virus *Avian influenza* adalah penyakit yang terbaru muncul di Indonesia. Penyakit ini sangat berbahaya dan mematikan untuk unggas, umumnya ayam buras. Karena penyakit ini agak sulit diidentifikasi, maka harus dilakukan pengamatan dan penelitian yang teliti dan akurat. Kendala dalam pengamatan penyakit ini adalah gejala gejala yang ditimbulkan tidak menyolok dan dominan, kadang unggas terlihat sehat, tetapi setelah melalui pengujian sampel darah ternyata terserang virus *Avian influenza*.

Jenis penyakit ini sering mengalami perubahan siklus dan menghasilkan virus-virus *Avian influenza* yang baru. Hal inilah yang sangat membedakan penyakit virus *Avian influenza* dari jenis-jenis penyakit ayam buras yang lainnya. Serta virus *Avian influenza* dapat hidup lebih lama di area yang berair. Virus *Avian influenza* pertama kali ditemukan di Italia pada tahun 1800, kemudian menyebar secara cepat pada tahun 1930 menjadi sporadis dan terlokalisasi, terutama di Timur Tengah (Murtidjo, 1992). Virus *Avian influenza* tergolong jenis virus unggas yang baru. Penyakit ini masuk ke Indonesia awal tahun 2000. Wabah virus *Avian influenza* pertama kali di temukan di Pekalongan Jawa Barat. Virus *Avian influenza* kemudian menyebar secara luas di Indonesia pada Agustus 2003, yang menyebabkan kerugian dan kematian.

Unggas merupakan hewan yang mendominasi di Indonesia sebagai hewan ternak karena perawatan yang cukup mudah merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman jenis tumbuhannya pada unggas Indonesia. Penyakit ini termasuk sulit diidentifikasi karena gejalanya sangat mirip dengan penyakit ND dan yang ditimbulkan tidak bersifat patogenik pada awal terserangnya karena memiliki masa inkubasi 1 sampai 3 hari. Untuk mengetahui ternak ayam buras terserang virus

Avian influenza diperlukan pengamatan yang teliti dan hasil uji laboratorium yang akurat, yaitu dengan menggunakan metode uji HA (*Haemagglutination*)

B. Tujuan

Adapun tujuan dari pengujian ini adalah ingin mengetahui bagaimana hasil positif sampel serum darah dari ayam buras tersebut terserang virus avian influenza melalui pengujian HA (*Haemagglutination*).

C. Tinjauan pustaka

1. Avian influenza

Flu Burung adalah influenza pada unggas yang disebabkan oleh virus Avian Influenza (AI) dari famili *Orthomyxoviridae*. Virus AI terdiri atas 3 tipe antigenik yang berbeda, yaitu A, B dan C, juga mempunyai sub-tipe yang dibagi berdasarkan permukaannya yaitu Hemagglutinin (HA) dan Neuraminidase (NA), yang terbagi menjadi 16 sub-tipe H dan 9 sub-tipe N. Virion menciri dari virus influenza A adalah membulat dan berdiameter 100 nm tetapi lebih sering ditemukan bentuk yang lebih besar dan tidak beraturan. Terdapat 8 protein virion, lima darinya merupakan protein struktural dan 3 berkaitan dengan polimerase RNA. Terdapat 2 jenis polimer, molekul hemagglutinin (H) bentuk batang, yang merupakan trimer dan molekul neuramidase (N) bentuk jamur yang merupakan tetramer. Kedua molekul H dan N itu merupakan lipoprotein dan membawa epitop khusus-subtipe (Nazaruddin., 2008).

Avian influenza atau *fowl plague* disebabkan oleh virus influenza tipe A yang termasuk dalam family *Orthomyxoviridae*. Berdasarkan perbedaan antigenic dalam nucleoprotein (NP) dan protein Matriksnya (M), virus influenza terbagi menjadi 3 tipe yaitu influenza tipe A, B dan C. Influenza tipe A merupakan satu-satunya golongan *Orthomyxoviridae* yang menginfeksi unggas. Berbagai jenis unggas darat dan unggas air peka terhadap virus ini. Penyakit ini bersifat zoonosis dan dapat menimbulkan kerugian yang cukup besar (Tim Penyusun, 2008).

Virus Influenza tipe A dibagi ke dalam beberapa subtype berdasarkan sifat antigenic Hemagglutination (HA) dan Neuraminidase (NA). Variasi subtype virus AI yang diketahui adalah 16 H subtype dari H1-H16 dan 9 N subtype dari N1-N9. Dikenal 2 bentuk penyakit AI yaitu bentuk ringan (*Low Pathogenic Avian Influenza*) dan bentuk ganas (*Highly Pathogenic Avian Influenza*). Virus HPAI dapat

menyebabkan penyakit yang bersifat akut dan perakut. Proses penyakit berlangsung sangat cepat (beberapa jam sampai 3 hari) dengan mortalitas tinggi dapat mencapai 100%. Gejala klinis yang timbul dapat berupa gangguan pernafasan ditunjukkan dengan batuk, bersin dan ngorok, hiperlakrimasi, sinusitis, oedema daerah kepala dan muka: cyanosis pada kulit yang tidak ditumbuhi bulu: gangguan pencernaan (diare): dan perdarahan pada organ dalam. Kadang-kadang ditemukan unggas yang terinfeksi mati secara mendadak tanpa diikuti adanya gejala klinis (Tim Penyusun, 2008).

a. Bentuk ringan (Low Pathogenic Avian Influenza)

Pada sinus mungkin ditemukan adanya salah satu atau campuran eksudat kataralis, fibrinus, serofibrinus, mukopurulen atau kaseus. Edema disertai eksudat dari serous sampai kaseus pada trakhea. Kantong udara menebal mengandung eksudat fibrinus atau kaseus. Pada peritoneum tampak adanya peritonitis fibrinus dan egg peritonitis. Pada sekum dan usus ditemukan adanya enteritis kataralis sampai fibrinous (Tabbu., 2000).

b. Bentuk akut (Highly Pathogenic Avian Influenza)

Apabila unggas mati dalam waktu yang singkat, maka biasanya tidak ditemukan adanya perubahan mikroskopik tertentu oleh karena lesi pada jaringan belum sempat berkembang. Pada sejumlah kasus dapat ditemukan kongesti, hemoragi, transudasi dan nekrosis. Jika penyakit ini berlanjut, maka kerap kali akan ditemukan adanya foci neurotik pada hati, limpa, ginjal dan paru (Tabbu., 2000).

Virus influenza C mengandung tujuh segmen genom, pemukaannya hanya mempunyai satu glikoprotein (Kamps., et al. 2007). Virus AI dapat diklasifikasikan ke dalam dua kelompok yaitu bentuk akut yang disebut dengan Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) dan yang bentuk ringan disebut Low Pathogenic Avian Influenza (LPAI). Cara penularan di alam, yang bertindak sebagai reservoir utama virus AI adalah unggas air seperti itik liar, dalam tubuhnya ditemukan semua subtipe yang ada dan dapat bersembunyi pada saluran pernapasan dan saluran pencernaan dan menyebar ke unggas lain melalui inhalasi. Penularan avian influenza dapat terjadi melalui kontak langsung antara ayam sakit dengan ayam yang peka. Ayam yang terinfeksi mengeluarkan virus dari saluran pernapasan

konjungtiva dan feses (Nazaruddin., 2008). Penularan juga dapat terjadi secara tidak langsung, misalnya melalui udara yang tercemar oleh material/debu yang mengandung virus influenza, makanan/minuman, alat/perlengkapan peternakan, kandang, pakaian, kendaraan, peti telur, nampan telur, burung dan mamalia yang tercemar virus influenza. Lalat juga mempunyai peranan dalam menyebarkan virus AI. Tinja yang mengandung virus avian influenza dalam 1 gram dapat menginfeksi ayam sebanyak satu juta ekor (Nazaruddin., 2008). Agen infeksi lain, faktor lingkungan/stress dapat berpengaruh pada berat/ringannya dari suatu penyakit. Unggas yang sembuh menjadi carier, sebagai pembawa sifat (Ambar, 2005).

Faktor-faktor yang mempengaruhi penularan flu burung yaitu kepadatan penduduk dan kepadatan unggas, virus yang bersirkulasi (H5N1), biosekuriti yang menurun, kerentanan daya tahan tubuh manusia dan hewan (Nazaruddin., 2008).

1. Mula- mula virion menempel pada reseptor sel tropisma melalui protein hemaglutinin. Proses endositosis ini akan berlangsung beberapa waktu, berdasarkan pengamatan sekitar 10 menit, proses endositosis dan pelepasan selubung telah mencapai 50 %, proses ini sampai semua segmen RNA ke luar ke dalam sitoplasma.
2. Segmen- segmen tersebut masuk ke dalam nucleus dan mengalami transkripsi, untuk merubah bentuk (-)RNA menjadi (+)RNA. Sebagian segmen keluar kembali ke sitoplasma untuk mempersiapkan protein selubung untuk dipakai oleh virus baru yang akan dihasilkan. Protein yang dimaksud adalah HA, NA, M dan NS.
3. Delapan segmen yang berada di inti sel ditambah dengan segmen RNA yang masih tersisa di sitoplasma melakukan replikasi, yaitu memperbanyak RNA. Virus RNA lain, replikasi di luar inti. Selama di dalam inti, AI menggunakan bahan- bahan yang diperlukan dari dalam inti sel inang. Proses ini yang memudahkan terjadi proses Antigen drift dan Antigen shift.
4. Segmen RNA yang sudah mengalami replikasi, keluar ke sitoplasma untuk dibungkus dengan protein HA, NA, M, serta NS, menjadi anak AI yang siap dilepas dari sel hospes. Untuk bisa keluar, virus ini harus menempel pada

reseptor dalam sel hospes. Penempelan ini dilakukan oleh protein neuroaminidase, berlangsung selama 2 jam sejak infeksi (Rahardjo., 2004).

Gejala Klinis Masa inkubasi virus avian influenza bervariasi antara 1-3 hari, masa inkubasi tersebut tergantung pada dosis virus, rute kontak dan spesies unggas yang diserang (Nazaruddin., 2008). Gejala yang terlihat dapat berbentuk gangguan pada saluran pernapasan, pencernaan, reproduksi dan sistem saraf (Rahardjo., 2004). Gejala awal yang dilaporkan adalah penurunan nafsu makan, emasi, penurunan produksi telur, gejala pernapasan seperti batuk, bersin, menjulurkan leher, hiperlakrimasi, bulu kusam, pembengkakan (oedema) muka dan kaki, sianosis pada daerah kulit yang tidak berbulu, gangguan saraf dan diare. Mortalitas biasanya meningkat antara 10-50 kali dari hari sebelumnya dan mencapai puncaknya pada hari ke-6 sampai ke-7 setelah timbulnya gejala (Tabbu, 2000).

Faktor predisposisi seperti lingkungan yang jelek, penggunaan vaksin virus hidup dan infeksi sekunder oleh virus, bakteri serta mikoplasma dapat memperparah gejala klinis. (Nazaruddin., 2008). Pengendalian & Pencegahan Avian influenza tidak dapat diobati, pemberian antibiotik/antibakteri hanya untuk mengobati infeksi sekunder oleh bakteri atau mycoplasma. Pengobatan suportif dengan multivitamin perlu juga dilakukan untuk proses rehabilitasi jaringan yang rusak (Tabbu., 2000). Tindakan pencegahan lain yang dapat dilakukan adalah mencegah kontak antara unggas dengan burung liar atau unggas liar, depopulasi atau pemusnahan terbatas di daerah tertular, pengendalian limbah peternakan unggas, surveilans dan penelusuran, pengisian kandang kembali atau peremajaan, penerapan stamping out atau pemusnahan menyeluruh di daerah tertular baru dalam menangani wabah HPAI untuk menghindari resiko terjadinya penularan kepada manusia, karena bersifat zoonosis, peningkatan kesadaran masyarakat, serta monitoring dan evaluasi (Nazaruddin, 2008).

2. Pengujian HA (Hemagglutination)

Uji hemaglutinasi (HA) merupakan metode yang memanfaatkan sifat hemaglutinasi virus yaitu protein hemaglutinin terhadap eritrosit yang dimiliki oleh *Avian Influenza*. Metoda ini banyak digunakan dalam pengujian karena efektifitasnya, baik dalam waktu, biaya dan kualitas. Hemaglutinasi eritrosit oleh virus merupakan mekanisme menempelnya hemaglutinin pada permukaan sel

darah merah. Hal itu dapat terjadi karena virus memiliki protein haemagglutinin yang dapat mengikat sel darah merah ayam. Virus – virus tersebut dapat membentuk formasi teralis berupa endapan eritrosit. Formasi ini dipengaruhi oleh faktor fisikokimia, seperti kekuatan ionik, pH dan suhu. Tempat menempel virus pada permukaan eritrosit merupakan bagian spesifik yang terdiri dari karbohidrat (mukopolisakarida), tempat tersebut memiliki sifat seperti lem. Perlekatan virus dengan eritrosit ini dalam jumlah dan waktu tertentu akan membentuk masa gumpalan yang cukup berat hingga perlahan-lahan mengendap pada dasar tabung/mikroplate dengan pola khas. Haemagglutinas dihambat oleh enzim neuromimidase pada virion. Enzim tersebut dapat menghancurkan reseptor glikoprotein pada permukaan eritrosit dengan membuka terminal dari *neuric acid* dan membuat virus dapat melepaskan diri. Sel darah merah yang terlepas tidak dapat lagi berikatan dengan virus sejenis kecuali dengan virus lain. Namun virus masih dapat mengagglutinas sel darah merah yang baru karena reseptornya masih utuh. Berdasarkan sifat tersebut pembacaan titer virus tidak dapat terlalu lama, dilakukan secepatnya setelah kontrol virus dan kontrol reagen telah memperlihatkan hasil yang dapat dibandingkan.

Sampel yang diperiksa dengan uji hemagglutinas (HA) dan hemagglutinas inhibisi (HI) menjadi uji yang penting untuk mengetahui adanya sifat virus yang mampu mengagglutinas eritrosit dan dapat digunakan untuk mengukur titer virus maupun titer antibodi. Aktivitas HA dihasilkan oleh saling adsorbsi dari permukaan virus (haemagglutinas) dan eritrosit. Adsorbsi dapat terjadi pada beberapa bagian dari permukaan virus yaitu komponen sel yang mampu memberi respon untuk adsorbsi yang tersusun teratur dan rapat pada permukaan sel atau epitop. Uji HA positif akan ditunjukan dengan adanya agregat eritrosit yang berkeping-keping. Uji HA cepat biasanya dipakai untuk mengidentifikasi virus yang mampu menghemagglutinas eritrosit ayam. Uji HA lambat digunakan untuk mengetahui titer virus. Kemampuan virus berikatan dengan eritrosit ditandai dengan adanya hemagglutinas. Titer virus dapat diketahui dengan melihat sumuran terakhir pada nomor tertinggi (*end point*) yang menunjukkan adanya hemagglutinas positif yang ditandai dengan adanya agregat-agregat di dasar sumur.

Haemaglutinasi (HA) dapat digunakan sebagai uji pendahuluan untuk mengenali kemampuan suatu virus, sedangkan uji hemaglutinasi inhibisi (HI) oleh antibodi spesifik dapat digunakan sebagai cara untuk mengenali isolat virus tertentu atau mengukur titer antibody.

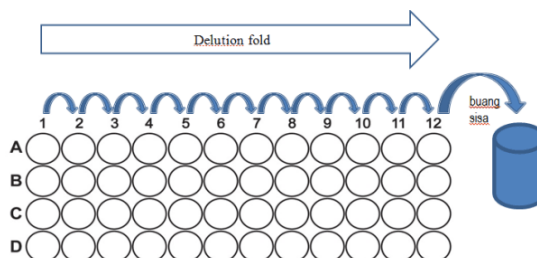
D. Metode Kerja

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pengujian ini adalah transfer plates microplate 96 lubang, v boltom, vol 250-300 μ l, micro-shaker, Pipet (single channel 5-40 μ l, single channel 40-200 μ l, Multichannel 50-300 μ l dan 5-50 μ l, pipet, tip, Freezer, Centrifuge, Tabung centrifuge, gelas beker, flask dan pinset. Adapun bahan yang digunakan dalam pengujian ini adalah bahan kimia larutan PBS Ph 7.2-7.4, antibiotic , alcohol 70%. bahan biologis sampel serum ayam, virus standar/antigen, stok suspense 10% RBC ayam normal, suspense 1% RBC ayam normal, serum control positif, serum control negative.

2. Prosedur Kerja

Persiapan microplate (8x12 lubang), kemudian larutan PBS dimasukkan kesemua lubang masing-masing 0,025 ml, selanjutnya antigen AI AI (Avian Influenza) sebanyak 0,025 ml diisikan kelubang kolom , kemudian encerkan antigen tersebut dengan cara dikocok 5-10 kali dari lubang kolom 1 sampi kolom 11 selanjutnya dari lubang 11 dibuang sebanyak 0,025 ml, kemudian PBS diisikan lagi sebanyak 0,025 ml kesemua lubang (kolom 1- kolom 12), setelah itu diisikan 0,025 ml RBC ayam normal 1% kesemua lubang, selanjutnya *microplate* dikocok dengan menggunakan *microshaker* selama \pm 30 detik, langkah terakhir yaitu plate dibiarkan disuhu ruangan sampai lubang control negative (kolom 12) RBC-nya mengendap sempurna (\pm 40 detik suhu kamar atau 60 menit pada suhu 3°C).



Gambar 10.1. Mikroplate

E. Hasil dan Pembahasan

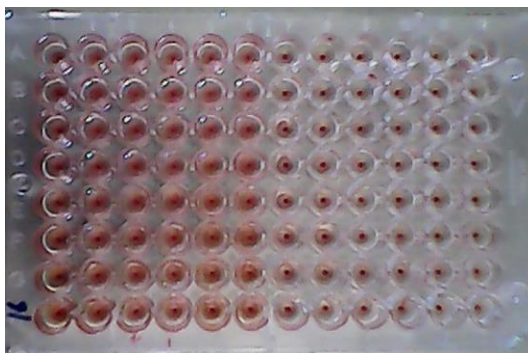
1. Hasil Pengamatan

10.1. Tabel hasil pengujian HA pada virus Avian influenza

No Pengenceran	Pengenceran antigen	PBS	Antigen AI	PBS	RBC 1%	Hasil
1	0	0,025	0,025	0,025	0,025	Positif
2	2	0,025	0,025	0,025	0,025	Positif
3	4	0,025	0,025	0,025	0,025	Positif
4	8	0,025	0,025	0,025	0,025	Positif
5	16	0,025	0,025	0,025	0,025	Positif
6	32	0,025	0,025	0,025	0,025	Positif
7	64	0,025	0,025	0,025	0,025	Negatif
8	128	0,025	0,025	0,025	0,025	Negatif
9	256	0,025	0,025	0,025	0,025	Negatif
10	512	0,025	0,025	0,025	0,025	Negatif
11	1024	0,025	0,025	0,025	0,025	Negatif
12	Kontrol RBC	0,025	-	0,025	0,025	Negatif

Keterangan :

1. Hasil positif terjadi aglutinasi
2. Hasil negative tidak terjadi aglutinasi



Gambar 10.2. Hasil Pengujian HA pada Virus *Avian Influenza*

Keterangan:

1. Pengujian HA pengenceran serum bertingkat dari terkecil (kiri) dan terbesar (kanan)
2. Hasil positif terjadi aglutinasi (kolom 1-6)
3. Hasil negative tidak terjadi aglutinasi (kolom 7-12)

2. Pembahasan

Uji hemaglutinasi (HA) merupakan metoda yang memanfaatkan sifat hemaglutinasi virus yaitu protein hemaglutinin terhadap eritrosit yang dimiliki oleh *Avian Influenza*. Metoda ini banyak digunakan dalam pengujian karena efektifitasnya, baik dalam waktu, biaya dan kualitas. Hemaglutinasi eritrosit oleh virus merupakan mekanisme menempelnya hemaglutinin pada permukaan sel darah merah. (Hal itu dapat terjadi karena virus memiliki protein haemaglutinin yang dapat mengikat sel darah merah ayam. Virus – virus tersebut dapat membentuk formasi teralis berupa endapan eritrosit. Formasi ini dipengaruhi oleh faktor fisikokimia, seperti kekuatan ionik, pH dan suhu.

Teknik mikrotiter diawali dengan menambahkan masing-masing 0,05 ml PBS atau larutan NaCl Fsiologis pada setiap sumuran microplate menggunakan pipet microdropper kecuali pada sumuran pertama. Sebanyak 0,05 ml cairan alantois/antigen yang diuji ditambahkan pada sumuran pertama dan kedua. Pengenceran seri berkelipatan dua dilakukan mulai dari sumuran ke-2 sampai ke-11 dengan menggunakan pengencer mikro atau micro diluter. Selanjutnyasebanyak 0,05 ml sel darah merah unggas 0,5% ditambahkan ke dalam setiap sumuran microplate dan dicampur menggunakan pengayak mikro atau secara manual selama 30 detik. Reaksi positif ditandai dengan adanya bentukan kristal pada campuran tersebut. Kebalikan dari pengenceran tertinggi yang masih dapat menghemaglutinasi sel darah merah adalah merupakan titer virus AI.

Sel darah merah unggas standar yang digunakan adalah RBC 0,5%. Jika hewan unggasnya berupa ayam, darah diambil dari vena sayap. Segera setelah darah terambil, darah dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi larutan NaCl fisiologis 0,85-9% supaya eritrosit tetap utuh karena larutan ini bersifat isotonic. Darah dan larutan fisiologis tersebut kemudian di sentrifugasi 2500-3000 rpm selama 15-30 menit. Cairan supernatant dibuang dan endapan yang mengandung eritrosit ditambahkan lagi dengan larutan fisiologis yang baru, kemudian di sentrifuge lagi. Ulangi prosedur tersebut sampai empat kali sehingga diperoleh endapan yang mengandung eritrosit murni (RBC 100%).

RBC 100% kemudian diencerkan menjadi RBC 10% dan selanjutnya diencerkan lagi menjadi RBC 0,5%.

Pembacaan dilakukan dengan cara sebagai berikut. Pada lubang yang menampilkan terjadinya endapan seperti pada lubang control negative dinyatakan negative HA, sedangkan yang menunjukkan terjadinya aglutinasi (penggumpalan RBC) dinyatakan positif HA. Untuk memudahkan pembacaan, pelat mikrotiter dimiringkan 45 derajat. Penghitungan HA unit dilakukan dengan cara menghitung lubang yang positif.

F. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan dilaboratorium virology Balai Besar Veteriner Maros, pengujian dinyatakan positif HA apabila menunjukkan terjadinya aglutinasi (penggumpalan RBC) pada lubang platedan negative HA apabila pada lubang plate tidak terjadi aglutinasi.

G. Daftar Pustaka

Ambar, D.R. dan Handayani, W. 2005. *Flu Burung. Penebar Swadaya*. Jakarta.

Nasaruddin, B.A. 2008. *Pengendalian Hama dan Penyakit Ayam*. Kanisius. Yogyakarta

Rahardjo dan Yonathan. 2004. *Avian Influenza, Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasannya*. Edisi I. Penerbit Gallus Indonesia Utama. Jakarta.

Tabbu, C.R. 2000. *Penyakit Ayam dan Penanggulangannya: Penyakit Bakterial, Mikal, dan Viral*. Kanisius, Yogyakarta.

Tim Penyusun. 2006. *Petunjuk Pengujian*.Laboratorium virology Balai Besar Veteriner. Maros.

Teknik Pembuatan Preparat Histologi dan Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E)

11

Muh. Habil Ahmad

A. Latar Belakang

Histologi mempelajari jaringan penyusun tubuh, kimia jaringan dan sel. Histologi dipelajari menggunakan metode analitik mikroskopik dan kimia. Metode ini akan memberikan gambaran histologi, respon jaringan terhadap etiologi dan patologi (Harjana, 2011). Hal yang sangat penting dalam mengenali suatu kondisi patologi sebagai akibat suatu penyakit dan perubahan-perubahan seluler. Kondisi patologi membantu mendiagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penegakan diagnosis melalui hasil pengamatan terhadap jaringan yang diduga terganggu dengan diambil sampel organ (Suntoro, 1983).

Pemeriksaan histopatologik merupakan pemeriksaan rutin yang dilakukan untuk setiap jaringan yang dikirim ke laboratorium patologi anatomik. Pengolahan jaringan yang baik akan memberikan kualitas hasil sediaan yang memuaskan untuk dinilai oleh patolog. Kualitas sediaan hasil pengolahan jaringan dipengaruhi oleh banyak faktor, terutama dari tahap-tahap pengolahan jaringan itu sendiri (Srinivasan et al., 2002). Purnomo dkk (2002) dalam Pratiwi dan Manan (2015) menambahkan bahwa kepentingan pemeriksaan histopatologi dalam diagnosa penyakit infeksi dapat membantu dalam mengklasifikasikan penyakit berdasarkan waktu dan distribusi penyakit. Penentuannya infeksi dapat dilihat dari peradangan dan infiltrasi sel radang yang ada. Adanya pengetahuan teknik dasar histologi menjadi penting dalam menunjang keberhasilan histopatologi.

Pengetahuan tentang diagnosis penyakit melalui struktur jaringan merupakan hal yang berhubungan dengan pemeriksaan histopatologi. Teknik histopatologi adalah seni dan ilmu pengetahuan yang dilakukan oleh teknisi untuk membuat potongan jaringan dengan kualitas yang baik sehingga memungkinkan patologis untuk mendiagnosis ada atau tidaknya suatu kelainan. Bagian yang penting dalam semua teknik histologi adalah bagaimana menjaga sel dan jaringan seperti

bentuknya yang biasa (Bindhu et al., 2013; Holliday, 2004). Proses pengolahan jaringan dimulai dari proses pengiriman status dan jaringan ke laboratorium patologi anatomik, pemotongan jaringan, fiksasi jaringan, proses pembuatan blok parafin dan pewarnaan (Ganjali 2012 dalam Musyarifah dan Agus, 2018).

Oleh karena itu, bentuk preparat menjadi penting untuk dipelajari, sehingga struktur jaringan normal atau abnormal dapat teridentifikasi dengan baik. Preparat ini dibuat melalui proses pengolahan jaringan sampai didapatkan preparat yang telah diwarnai, sehingga struktur histologi dapat terlihat dengan jelas sehingga memudahkan pembacaan jaringan. Pembuatan preparat sediaan histologi dilakukan melalui beberapa tahap yaitu persiapan, pemrosesan, pengirisan dan pewarnaan jaringan (Suntoro, 1983).

B. Tujuan

1. Tujuan Umum

Mempersiapkan mahasiswa biologi untuk menjadi tenaga praktisi yang kreatif, trampil, kompeten dan jujur dalam melaksanakan tugas dan tanggung jawab

2. Tujuan Khusus

Mengetahui tahapan pembuatan preparat sediaan histopatologi dengan metode uji pewarnaan hemotoksilin dan eosin di Laboratorium Patologi Balai besar Veteriner Maros.

C. Tinjauan Pustaka

Histologi (Histos = Tissue (Jaringan) ; Logia = Science (ilmu)) atau dapat juga disebut sebagai anatomi mikroskopik, yang merupakan studi ilmiah mengenai struktur jaringan dan organ secara mikroskopik pada tubuh. Histologi modern tidak hanya menggambarkan jaringan namun juga mencakup aspek molekular dan biologi sel, sehingga dengan ini dapat menggambarkan struktur sel dan fungsinya. Metode yang digunakan dalam menentukan histologi dari suatu makhluk hidup sangatlah beragam. Berbagai mikroskop spesifik yang dapat digunakan seperti mikroskop cahaya, mikroskop virtual *transmission electron microscope* (TEM), *scanning electron microscope* (SEM), dan yang terbaru *atomic force microscope* (AFM) yang menyediakan gambar dengan resolusi yang lebih baik dibanding TEM. Pengamatan dan analisis struktur histologi pada berbagai mikroskop dapat diketahui dengan baik jika melalui persiapan jaringan (*Tissue preparation*) dengan

berbagai metode, salah satunya adalah Pewarnaan *Hematoxylin* dan *Eosin* dengan Fiksasi Formalin (Pawlina, 2016).

Pewarnaan *Hematoxylin* dan *Eosin* pada spesimen memiliki keuntungan dalam menunjukkan struktur sel dengan lebih jelas, sel-sel dapat teramati dalam keadaan mitosis, khususnya pada jaringan ganas, serta identifikasi sel dapat dengan mudah dilakukan, sehingga metode ini memungkinkan perincian sel-sel individual untuk dilihat (Culling, 1974). Pawlina (2016) menambahkan bahwa proses pewarnaan *Hematoxylin* dan *Eosin* pada sampel jaringan melalui 3 tahapan yaitu sebagai berikut:

1. Persiapan sampel jaringan atau organ dengan fiksasi untuk mempertahankan struktur.

Fiksasi merupakan langkah awal untuk mempertahankan struktur jaringan, yang dimana terdiri dari bahan kimia atau campuran bahan kimia. Spesimen dalam tahapan ini akan direndam terlebih dahulu dalam larutan fiksasi seperti formalin. Formalin yang digunakan umumnya tergolong dalam formaldehide 37% yang dikombinasikan dengan bahan kimia lain dan larutan penyangga. Formaldehida akan mempertahankan struktur umum sel dan ekstraseluler komponen dengan bereaksi dengan gugus amino protein (paling sering residu lisin yang saling terkait). Karena formaldehida tidak secara signifikan mengubah struktur tiga dimensi protein sehingga dapat mempertahankan kemampuan mereka untuk bereaksi dengan antibodi spesifik. Adapun penggunaan fiksasi bertujuan untuk:

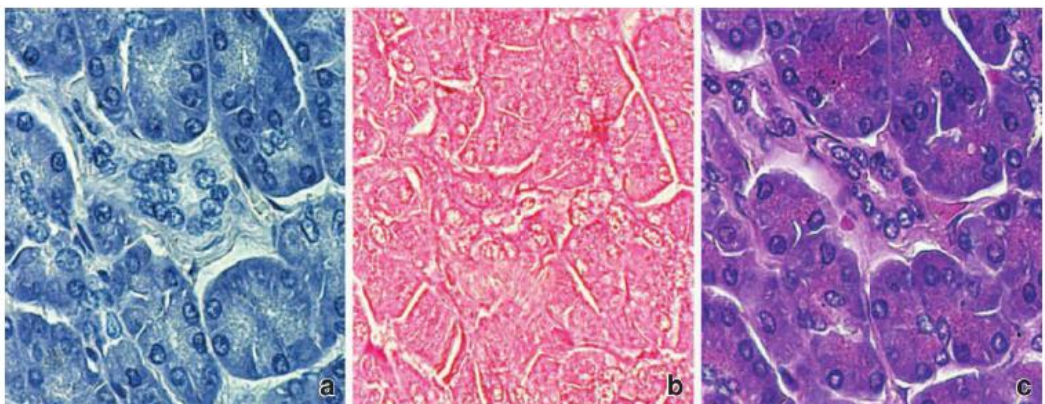
- a. Menghentikan metabolisme sel,
 - b. Mencegah degradasi enzimatik sel dan jaringan oleh autolisis (pencernaan sendiri),
 - c. Membunuh mikroorganisme patogen seperti bakteri, jamur, dan virus, dan
 - d. Mengeraskan jaringan akibat ikatan silang atau mendenaturasi molekul protein.
2. Spesimen dipersiapkan untuk ditempelkan dalam parafin untuk memungkinkan *sectioning* (Pemotongan)

Mempersiapkan spesimen untuk pemeriksaan memerlukan infiltrasi dengan media penyisipan yang memungkinkannya untuk diiris tipis, biasanya dalam kisaran 5 hingga 15 μm . Spesimen tersebut dicuci setelah fiksasi dan

didehidrasi dalam serangkaian larutan alkohol dengan konsentrasi naik hingga 100% alkohol untuk menghilangkan air. Pada langkah selanjutnya, membersihkan, pelarut organik seperti xylol atau toluol, yaitu dilarutkan kedalam alkohol dan parafin digunakan untuk menghilangkan alkohol sebelum infiltrasi spesimen dengan leleh parafin. Ketika parafin yang meleleh itu dingin dan mengeras, akan menjadi blok berukuran tepat. Bloknnya adalah kemudian dipasang di mesin pengiris yang dirancang khusus pada sebuah mikrotom hingga membentuk slide.

3. Pewarnaan spesimen untuk memungkinkan pemeriksaan

Pewarnaan spesimen dilakukan dengan melarutkan slide pada xilol atau toluol terlebih dahulu, slide kemudian harus direhidrasi melalui serangkaian solusi konsentrasi alkohol yang menurun. Jaringan pada slide kemudian diwarnai dengan hematoxylin dalam air. pewarnaan eosin, lebih larut dalam alkohol daripada dalam air, spesimen kembali mengalami dehidrasi melalui serangkaian larutan alkohol dengan konsentrasi naik dan diwarnai dengan eosin dalam alkohol. Gambar 11. 1 menunjukkan hasil pewarnaan dengan hematoxylin saja, eosin saja, dan hematoxylin dengan counterstain eosin. Setelah pewarnaan, spesimen kemudian dilewatkan melalui xilol atau toluol ke media pemasangan yang tidak berair dan ditutup dengan kaca penutup untuk mendapatkan preparasi permanen.



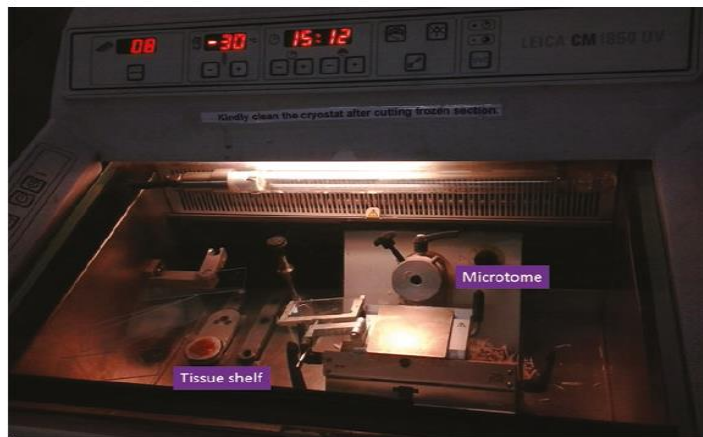
Gambar 11.1. Spesimen Pankreas. a) Photomicrograph ini mengungkapkan pewarnaan dengan hematoxylin saja, b) photomicrograph dengan Eosin, c) Photomicrograph ini mengungkapkan efek pewarnaan gabungan dari H&E. 480.

Sumber: Pawlina (2016)

Pengujian di laboratorium Patologi dengan pewarnaan *hematoxylin* dan *eosin* umumnya menggunakan teknik cryostat atau teknik beku untuk memudahkan diagnosis penyakit secara cepat. Teknik cryostat menggunakan suhu rendah (-10°C hingga -20 °C) (Culling, 1974). Suhu rendah akan membuat jaringan lebih erat, sedangkan peningkatan suhu dapat menyebabkan jaringan akan menjadi lebih lunak. Teknik cryostat dapat dilakukan dengan menggunakan mesin cryostat (gambar 11. 2). Mesin cryostat memiliki rentang suhu antara 0 °C hingga - 35 °C. Namun, sebagian besar jaringan menggunakan suhu -15 °C hingga - 25 °C (Dey, 2018). Selama proses pemotongan bagian memungkinkan menghasilkan metode pemisahan cepat jaringan segar, dengan cara ini penilaian histokimia serta untuk antigen fluoresen lebih mudah diamati khususnya dalam teknik antibodi (Culling, 1974).

Dey (2018) menambahkan bahwa proses dalam teknik cryostat membutuhkan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Keuntungan dan pemotongan spesimen, dalam pemotongan permukaan jaringan diharuskan untuk lebih halus. Hal ini akan memudahkan dalam pelaporan secara akurat atau mendiagnosis suatu jaringan seperti:
 - a. Mengidentifikasi sampel jaringan
 - b. Memberikan informasi klinis: memungkinkan terjadinya perbedaan diagnosa
 - c. Gambaran jaringan seperti warna, tekstur maupun nodul setiap jaringan
 - d. Anatomi jaringan
 - e. Reseksi margin: Sangat penting untuk mengidentifikasi margin reseksi tumor. Bidang reseksi dan margin harus ditulis dengan seksama. Berbagai warna tinta dapat digunakan untuk identifikasi margin medial dan lateral.



Gambar 11.2. Mesin Cryostat dan bagian-bagiannya (Dey, 2018)

D. Metode

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pembuatan histologi di laboratorium BBVET Maros yaitu talenan, pisau scalpel, pinset, saringan, *tissue casset*, mesin processor otomatis (STP 120), mesin vaccum, mesin bloking, *Laminar Air Flow* (LAF), TEC (Tissue Embedding Center), *Floating out bath*, freezer (-20°C), mesin microtome, pisau microtome, water bath 46 °C, kaca obyek, kaca penutup, rak khusus untuk pewarnaan. Bahan utama berupa potongan jaringan hewan yang telah difiksasi dengan Buffer Neutral Formalin (BNF) 10%. Larutan yang diperlukan adalah, ethanol absolute, xylol, parafin, glyserin 99,5 %, ewit (albumin), larutan hematoksin, lithium karbonat, larutan eosin, DPX, dan larutan dekalsifikasi (untuk jaringan tulang).

2. Prosedur kerja

a. persyaratan dalam melakukan pengambilan sampel

Sampel untuk pemeriksaan histopatologi dalam keadaan segar, artinya jaringan diambil secepat mungkin setelah hewan mati. Keterlambatan pengambilan jaringan, terlebih dalam suhu lapangan yang panas, mengakibatkan jaringan cepat menjadi busuk. Apabila di dalam kelompok hewan yang mati masih ada hewan lain yang sedang sakit, maka dianjurkan untuk mengambil sampel dari hewan tersebut. Pada jaringan yang mengalami perubahan maka diambil jaringan pada perbatasan antara jaringan yang sakit (mengalami perubahan) dengan jaringan yang sehat. Kemudian, ukuran

jaringan yang diambil sekitar 1 cm³. Jaringan tersebut harus segera difiksasi. Potongan jaringan yang terlalu besar mengakibatkan jaringan yang terletak di dalamnya tidak terfiksasi dengan sempurna, sehingga dapat membusuk. Jika jaringan berupa tulang, maka perlu dilunakkan terlebih dahulu dalam larutan dekalsifikasi dengan perbandingan antara jaringan dan larutan 1:20 dengan waktu perendaman selama 24 jam.

b. Proses Pembuatan Preparat Histopatologi

1) *Trimming*

Kegiatan *Trimming* merupakan kegiatan pemotongan jaringan organ. Jaringan yang telah difiksasi terlebih dahulu menggunakan larutan *Buffered Neutral Formalin* (BNF) 10% dengan pH berkisar antara 6.5 - 7.5. Jaringan kemudian dipotong menggunakan pisau *scalpel* dengan ketebalan 0,3 - 0,5 mm dan disusun ke dalam *tissue cassette*, kemudian sejumlah tissue cassette dimasukkan ke dalam keranjang khusus (basket). Proses trimming dilakukan di ruangan Nekropsi dengan menggunakan *Laminar Air Flow* (LAF) dan pada kegiatan ini dilakukan pemberian kode untuk mengenali sumber jaringan yang dipotong (gambar 11.3).



Gambar 11.3. *Trimming*

2) Pemrosesan Jaringan

Kegiatan yang sifatnya pasif adalah kegiatan pelaksanaan pemrosesan jaringan, yang dimana kegiatan ini hanya melakukan kegiatan pengamatan dalam proses fiksasi, dehidrasi, *clearing* dan *impregnasi* dengan menggunakan alat STP (Tissue Processor Shandom) 120 (Gambar 11.4). Alat ini hanya mampu menyimpan atau memproses kaset maksimum 120. Proses ini membutuhkan waktu selama 16,5 jam dengan tahapan yang tertera pada Tabel 11.1:

Tabel 11.1. Tahapan kerja STP (Tissue Processor Shandom) 120

No	Proses	Reagensia	Waktu (Jam)
1	Fiksasi	Buffer Formalin 10%	1
2	Fiksasi	Buffer Formalin 10%	1
3	Dehidrasi	Alkohol 70%	1,5
4	Dehidrasi	Alkohol 80%	1,5
5	Dehidrasi	Alkohol 96%	1,5
6	Dehidrasi	Alkohol 100%	1
7	Dehidrasi	Alkohol 100%	1
8	Dehidrasi	Alkohol 100%	1
9	Clearing	Xylol	1
10	Clearing	Xylol	1,5
11	Impregnasi	Paraffin	2
12	Impregnasi	Paraffin	2
Total Waktu			16,5 jam

Sumber: Laboratorium Patologi BBVET Maros, 2019



Gambar 11.4. STP 120

3) Mencetak Blok Paraffin

Cetakan blok paraffin menggunakan alat TEC (Tissue Embedding Center) (Gambar 11.5). Alat ini memiliki wadah untuk mencairkan paraffin, tempat *casset*, tempat basket, serta tempat pendinginan jaringan segar beku. Kegiatan ini dilakukan oleh mahasiswa magang secara aktif dengan langkah sebagai berikut:

1. Paraffin dicairkan dengan suhu alat mencapai 56°C - 57°C . Hal ini disebabkan paraffin tidak diperbolehkan mencairkan di atas 64°C .
2. *Casset* yang berisi potongan jaringan diambil menggunakan pinset dan meletakkannya di atas basket.
3. Letakkan di atas dispenser paraffin, kemudian tekan. Basket akan terisi cairan paraffin.
4. Letakkan kode di atas cairan paraffin kemudian letakkan di atas pendingin dengan suhu -3°C - 6°C untuk membentuk jaringan segar beku.



Gambar 11.5. Embedding Center

4) Pengirisan (Memotong Blok Paraffin)

Kegiatan ini merupakan proses pengirisan dengan menggunakan *microtome knife*. Pemotongan blok paraffin dengan cara metakkan blok paraffin pada penjepit kaset mikrotom, pisau mikrotom yang masih tajam dipasang pada tempat pisau mikrotom kemudian atur pada ketebalan 3 atau 4 μ dengan sudut 30° (Gambar 11.6). Putar pemutar mikrotom menggunakan tangan kanan sampai jaringan terpotong menjadi lembaran pita dengan ketebalan 3-4 μ m, kemudian lembaran pita jaringan diambil dan diletakkan pada *Floating out bath* sampai mengembang. *Floating out bath* (Gambar 11.7) yang berisi aquades dengan suhu konstan suhu 40°C dan dapat pula ditambahkan gelatin 1:20 dengan tujuan untuk merentangkan pita jaringan dengan sempurna. Lembaran jaringan di ambil menggunakan objek glass. Slide yang berisi tempelan potongan jaringan ditempatkan diatas pelat pemanas slide, minimal dua jam. Lembaran jaringan pada objek glass kemudian diberi kode lalu dimasukkan ke dalam mesin pendingin (kulkas).



Gambar 11.6. Memotong Blok Paraffin dengan *Microtome Knife*



Gambar 11.7. *Floating out bath*

5) Pewarnaan Jaringan

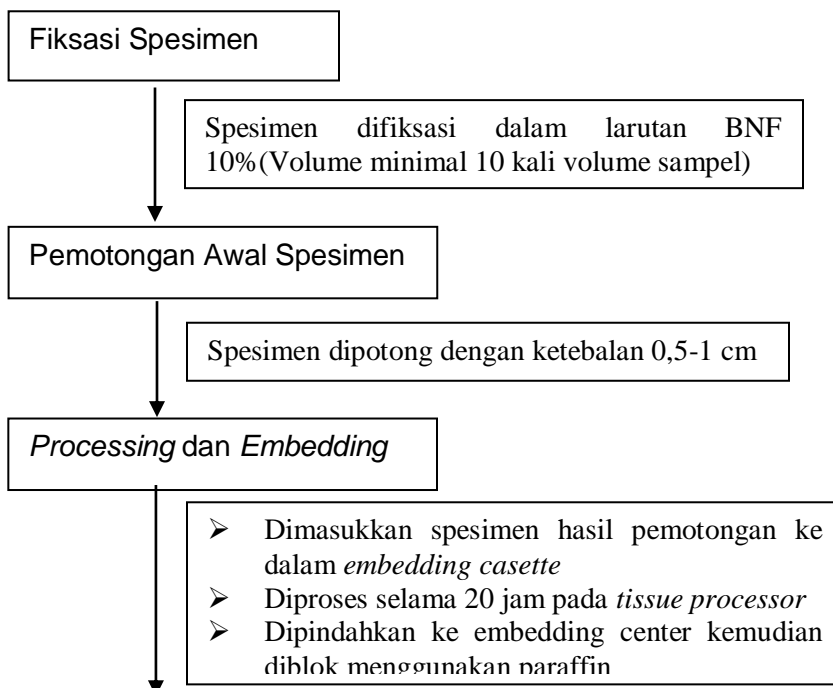
Kegiatan pewarnaan jaringan dilakukan di LAF dengan melalui tahapan-tahapan dalam perwarnaan *Mayer Hematoxylin Eosin* (gambar 11.8). Preparat yang akan diwarnai diletakkan pada rak khusus dan dicelupkan secara berurutan ke dalam larutan dengan waktu sebagai berikut:

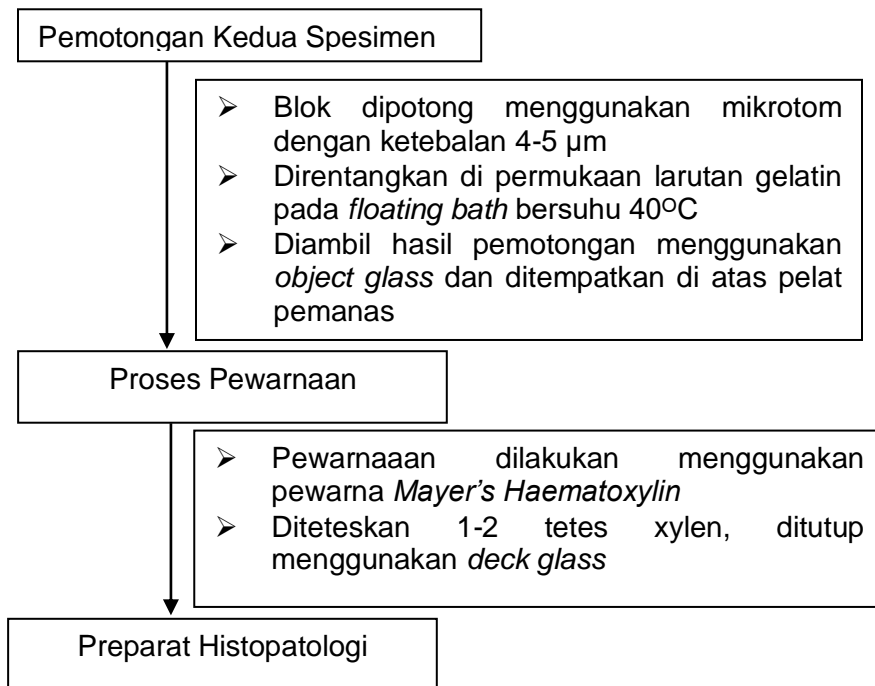
- Xylol I 2 menit
- Xylol II 2 menit
- Alkohol 100% I 1 menit
- Alkohol 100% II 1 menit
- Alkohol 95% I 1 menit
- Alkohol 95% II 1 menit
- Masukkan *Mayer hematoksilin* 15 Menit
- Rendam dalam Tap Water 20 menit
- Masukkan dalam *Eosin* 15 detik – 2 menit
- Alkohol 95% III 2 menit
- Alkohol 95% IV 2 menit
- Alkohol 100% III 2 menit
- Alkohol 100% IV 2 menit
- Xylol III 2 menit
- Xylol IV 2 menit
- Xylol V 2 menit

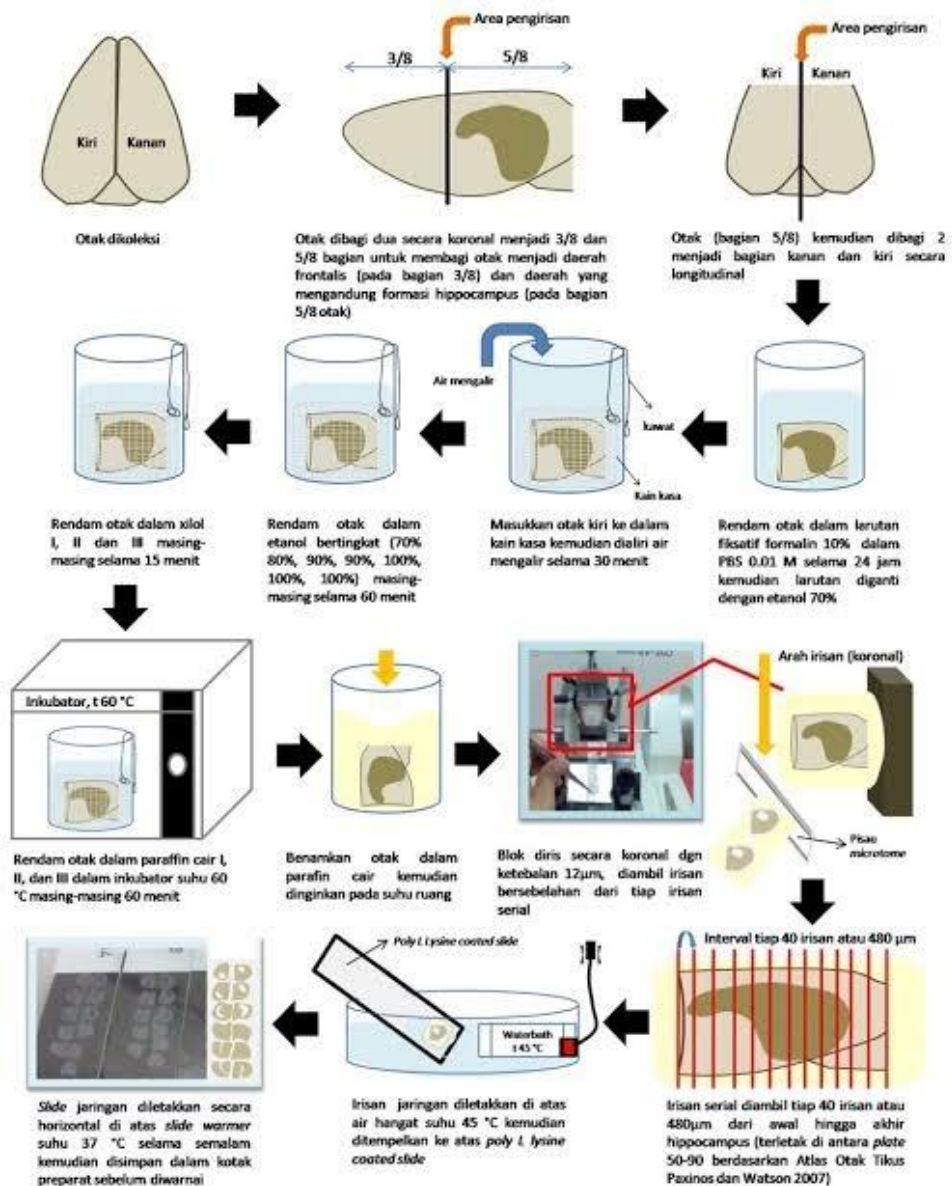


Gambar 11.8. Proses Pewarnaan *Mayer Hematoxylin Eosin*

3. Skema Kerja Pembuatan Preparat Histopatologi





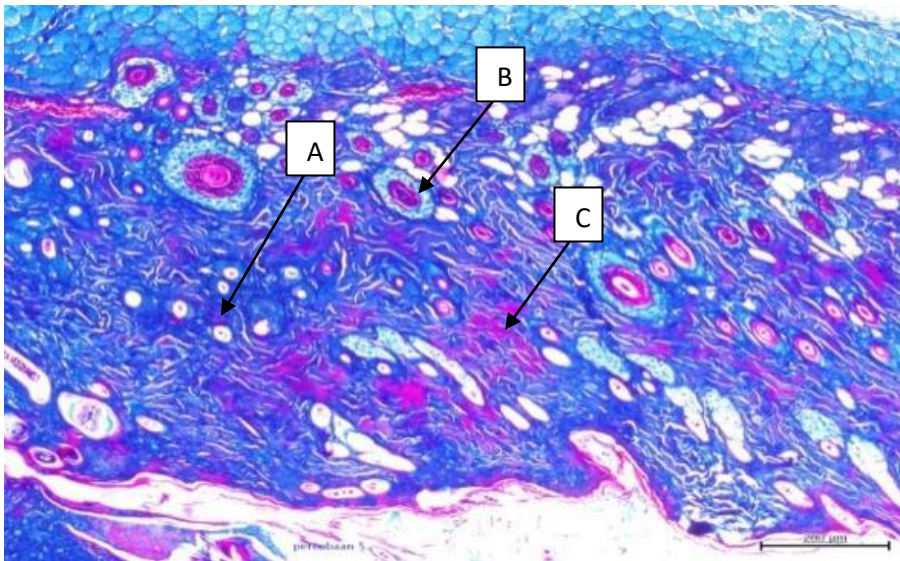


Gambar 11.9. Skema Kerja Pembuatan Preparat Histopatologi (Irawan, 2012).

E. Hasil dan Pembahasan

Hasil pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E) dapat dilihat pada (Gambar 11. 10). Dari hasil pewarnaan yang dilakukan pada jaringan otot terlihat dengan jelas bahwa inti sel dan kolagen berwarna biru sedangkan musculus berwarna merah muda sampai merah. Proses pembiruan dalam hematoksilin akan merubah warna merah kecoklatan dari hematoksilin menjadi biru kehitaman, dimana akan terlihat lebih jelas setelah dilakukan *counter stain* dengan *eosin* yang berwarna merah menjadi merah muda. Proses ini akan terjadi dalam air keran yang bersifat alkali atau

juga dapat dibantu dengan penambahan garam *lithium carbonat* yang menjadikan air lebih bersifat alkali.



Gambar 11. 10. Kolagen bewarna biru (a), Inti sel bewarna biru (b), Musculus bewarna merah muda (c). Pewarnaan H & E 400 x

Sumber: Googleimage

Pewarnaan jaringan dapat terjadi, lilin parafin perlu dihapus. Jadi langkah pertama dalam pewarnaan H&E adalah deparasi. Xilen akan digunakan dalam pemrosesan jaringan dapat secara memadai menghilangkan parafin. Secara umum tiga stasiun pembersih untuk masing-masing 3 menit cukup untuk mempersiapkan jaringan untuk hidrasi yang memungkinkan pewarnaan dalam larutan hematoksilin berair. Ketidaklarutan bahan pembersih dengan air, maka bahan pembersih diikuti oleh alkohol anhidrat dan kemudian alkohol yang diencerkan (95%, 70%) sebelum di aliri air.

Pewarnaan H&E berdasar pada pewarnaan asam dan basa yang menyebabkan terikatnya zat warna dengan jaringan dengan serangkaian proses reaksi kimia. Seperti, pewarna asam yaitu eosin yang membawa muatan negatif dan pewarna yang sifatnya basa akan membawa muatan positif. Pawlina (2016) menambahkan bahwa pada pewarna Hematoksilin tidak ditemukan definisi sebagai zat pewarna, namun sifatnya lebih mirip dengan pewarna basa. Komponen molekul yang bermuatan anion pada sel maupun jaringan seperti gugus fosfat pada asam nukleat, gugus sulfat dari glikosaminoglikan dan gugus karboksil pada protein akan

bereaksi dengan pewarna basa, dalam prosesnya disebut *basophilia*. Reaksi tersebut akan dipengaruhi oleh pH seperti yang nantinya akan mempengaruhi ikatan elektrostatik dan reaksi ionisasi dari molekul tersebut.

Peran Hemotoksilin dalam pewarnaan slide bukanlah sebagai zat pewarna basa, namun merupakan mordant yaitu sebagai suatu intermediet yang menghubungkan antara komponen jaringan dan pewarna. Hal ini akan berpengaruh terhadap munculnya *basophilia*. Pawlina (2016) bahwa sejumlah zat dalam sel dan matriks ekstraseluler akan mengakibatkan *basophilia* seperti:

1. Heterokromatin dan nukleolus dari nukleus (terutama karena gugus fosfat terionisasi dalam asam nukleat keduanya)
2. komponen sitoplasma seperti ergastoplasma (juga karena gugus fosfat terionisasi dalam ribosom RNA), dan
3. Bahan ekstraseluler seperti karbohidrat kompleks dari matriks tulang rawan (karena sulfat terionisasi grup).

Peran Eosin sebagai pewarna yang bersifat asam akan bereaksi dengan molekul bermuatan kation, proses ini kemudian disebut sebagai *acidophilia*, namun reaksi komponen sel atau jaringan dengan pewarna asam tidak terspesifik dan tepat seperti pewarna basa. Pawlina (2016) juga menambahkan bahwa faktor utama yang berpengaruh pada ikatan zat warna dengan komponen sel atau jaringan adalah ikatan elektrostatik. Eosin sebagai pewarna asam akan mewarnai atau menodai sitoplasma dan serat ekstraseluler secara selektif. Pewarnaan selektif komponen jaringan oleh pewarna asam disebabkan oleh faktor-faktor relatif seperti ukuran dan tingkat agregasi molekul pewarna dan permeabilitas dan "kekompakan" jaringan. Pewarnaan dengan pewarna asam kurang spesifik, tetapi lebih banyak zat dalam sel dan matriks ekstraseluler menunjukkan asidofilia seperti sebagai berikut:

1. Kebanyakan filamen sitoplasma, terutama sel-sel otot,
2. Sebagian besar komponen membran intraseluler dan banyak sitoplasma yang tidak terspesifikasi, dan
3. sebagian besar serat ekstraseluler (terutama karena terionisasi gugus amino).

Tahapan prosedur dengan menggunakan waktu yang standar, tidak menjamin akan mendapatkan hasil yang baik. Pengaturan waktu dalam proses pewarnaan ini sangat penting. Ketepatan waktu akan dipengaruhi oleh tipe dari tiap jaringan yang diproses, sehingga penggunaan waktu bisa berubah sesuai dengan kebutuhan.

F. Kesimpulan

Pembuatan preparat histologi dapat dilakukan dengan metode uji pewarnaan hematoksilin dan eosin dengan 5 tahapan yaitu, trimming, pemrosesan jaringan, mencetak blok paraffin, memotong blok paraffin, dan pewarnaan hematoksilin dan eosin. Pewarnaan hematoksilin dan eosin sangat bermanfaat untuk mengidentifikasi morfologi / komponen-komponen sel suatu jaringan dari organ tubuh hewan, sehingga kelainan histopatologi pada preparat dapat didiagnosis dengan baik.

G. Referensi

- Bindhu P, Krishnapillai R, Thomas P, Jayanthi P. 2013. Facts in artifacts. *J Oral Maxillofac Pathol*, 17(3):397–401.
- Culling, C. F. A. 1974. *Handbook of Histopathological and Histochemical Techniques*. London: Butterworth & Co. (Publishers) Ltd.
- Dey, Pranab. 2018. *Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology*. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Harjana, Tri. 2011. *Histologi*. Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta.
- Holliday JM. 2004. *Guide to Special Stains*. California, USA: DakoCytomation.
- Irawan, V., 2012. Thesis: *Efek protektif ekstrak etanol pegagan (centella asiatica (L.) Urban) terhadap proliferasi sel formasi hippocampus tikus dewasa pada kondisi stres kronis*. Veterinary Science, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia.
- Suntoro H. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi dan Histokimia)*. Jakarta: Bhartara Karya Aksara.
- Pawlina, Wojciech. 2016. *Histology*. Philadelphia. Wolters Kluwer Health.
- Pratiwi, H., & Manan, A. 2015. Teknik Dasar Histologi Pada Ikan Gurami (*Osphronemus Gouramy*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 7(2): 153-158.
- Musyarifah, Z., & Agus, S. 2018. Proses Fiksasi pada Pemeriksaan Histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 7(3): 443-453.